

Revista *SEMILLEROS Med*  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA

**DIRECTOR**

CR. MD. Juan Miguel Estrada Grueso

**DIRECTOR CIENTÍFICO**

Jorge Luque, CR. MD  
Vicedecano Facultad de Medicina

**COORDINADORA DE EDICIÓN**

Doris Gómez Camargo, M.sc., Ph. D  
Docente. Centro de Investigaciones

**COMITÉ CIENTÍFICO**

Lina S. Correa Cerro, M.D., MSc, Ph. D.  
University of Virginia, USA

Héctor Posso Valencia, MD, M.Sc.

Docente. Universidad Militar Nueva Granada

Andrés Menesses Díaz, M.D.

Texas Childrens Hospital, USA

Oscar Ortega Hernández

Estudiante XI semestre  
Facultad de Medicina

**EDITOR**

Mayerli Rodríguez Martínez  
Estudiante IX semestre. Facultad de Medicina

**SUBDIRECTOR DE EDICIÓN**

Paul Rainer Gis Castro  
Estudiante IX semestre. Facultad de Medicina

**DISEÑO DE PORTADA**

Luis Fernando Sastre

Estudiante 2º semestre  
Facultad de Medicina

Henry Hincapié

Estudiante 2º semestre  
Facultad de Medicina

**COMITÉ EDITORIAL**

Enrique Melgarejo Rojas, MD  
Docente Universidad Militar Nueva Granada

Carmén Morlás Bonilla, B.Sc.  
Docente Universidad Militar Nueva Granada

Martha Lucía Torres Chaparro, M.Sc

Directora Centro de Investigaciones

Ernesto L. Ravelo Contreras

Asesor Revista Med

Claudio Gómez Alegría, Ph. D.

Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.

**Diagramación e Impresión:**

Editorial Kimpres Ltda.

PBX: 413 6884

Bogotá, D.C.



# CONTENIDO

Volumen 1 • No. 1 • Enero de 2007

PRESENTACIÓN	
<i>Coronel Juan Miguel Estrada Grueso</i> .....	4
EDITORIAL .....	5
<b>ARTÍCULOS ORIGINALES</b>	
<b>Búsqueda de secuencias conservadas implicadas en reacciones ligando receptor de la glucoproteína 120 del virus de la inmunodeficiencia humana</b>	
<i>Paul Rainer Gis Castro, Enrique Salcedo</i> .....	6
<b>Factores hereditarios asociados a miopía en una muestra de pacientes en la población de Soacha, tratados en los últimos dos años</b>	
<i>Javier Amaya, Linda Esquivel, Nataly González, Clara Martínez, Doris Gómez</i> .....	15
<b>ARTÍCULOS DE REVISIÓN</b>	
<b>Infección por el virus de la Influenza aviar A en humanos</b>	
<i>Carlos Pérez, Luis Pino, Camila Pinzón</i> .....	20
<b>Médula Neural: Origen de la célula madre neural</b>	
<i>Néstor Oswaldo Ruge Peña</i> .....	26
<b>Receptores Toll: Generalidades e implicaciones clínicas</b>	
<i>Diana C. Porras Luengas, Diana Pachón</i> .....	31
<b>Respuesta TH1 y TH2 en la gestación</b>	
<i>Clara Stella Martínez Otálora</i> .....	38
<b>Terapia génica: ¿Milagro para el cáncer de seno?</b>	
<i>Carolina Ruiz, María T. Zabala, Yully González, María Escobar, Doris Gómez</i> .....	42
<b><i>Vibrio Cholerae</i></b>	
<i>Angélica V. Fletcher, Iván A. Méndez</i> .....	49
<b><i>Trichomonas vaginalis</i>: Consecuencias de su infección</b>	
<i>Claudia García, Michela Moreno, Diana Muñoz, María Paula Mejía, Carmen Morlás</i> ....	65
REFLEXIÓN .....	74
ENTORNO .....	76
PACIENTE IMAGINARIO .....	78
GUÍA PARA LOS AUTORES .....	82

## COMO PROYECCIÓN DE LA REVISTA *Med* NACE SEMILLEROS *Med*

Coronel Médico JUAN MIGUEL ESTRADA GRUESO  
Decano Facultad de Medicina  
Universidad Militar Nueva Granada



Nuestra **Revista Med**, creada por iniciativa de un dinámico y emprendedor grupo de estudiantes, ingresó, a partir de enero del 2005 y después de doce años de presencia en la comunidad científica, en un programa de actualización y renovación tendiente a optimizar su calidad e impacto en el medio académico, en cumplimiento del plan de desarrollo de la Facultad de Medicina para el periodo 2004-2008. Fue así como después de un arduo e intenso trabajo del comité creado para tal fin, se sometió con su volumen No.13, publicado en julio de 2005, a un proceso de evaluación por parte de pares externos que llenó de satisfacción a toda la comunidad neogranadina y que le permitió su ingreso a índices y bases bibliográficas tan prestigiosas como Bireme, Publindex de Colciencias, en donde se clasificó en categoría B y a LILACS, una base de datos cooperativa del sistema Bireme, en la que se agrupa, a nivel de Latinoamérica y del Caribe, la literatura científica en el campo de las Ciencias de la Salud.

Esos resultados han generado nuevos retos y metas y un mayor compromiso con nuestros lectores y suscriptores, orientados al logro de un horizonte promisorio.

Nuestra continua y permanente reflexión acerca de la permanencia en el medio científico y académico de las publicaciones universitarias nos reafirma en la convicción de que además del apoyo logístico institucional, es indispensable también, desde los programas de formación profesional, una labor académica dinámica y creativa en

la que se generen espacios para que los estudiantes, tanto de pregrado como de posgrado, además de alcanzar las competencias necesarias para su desempeño profesional, se formulen preguntas y propongan soluciones en torno a la resolución de problemas de complejidad creciente de acuerdo con su nivel de formación, guiados y acompañados por sus docentes en las diferentes áreas, que dentro de la normas de rigor científico, los orienten a escribir los resultados de sus proyectos. Los resultados de estos trabajos, que podríamos llamar de iniciación científica, bien merecen su divulgación, no solo como estímulo y reconocimiento a sus autores, sino como motivación para seguir regando semillas que en un futuro no muy lejano germinen y conviertan a nuestros egresados en una sólida población de profesionales capaces de generar investigaciones de mayor complejidad, que contribuyan al desarrollo científico y social de la nación. Todo esto es lo que ha dado origen a la creación de esta, la revista de los estudiantes para estudiantes y en cuyo nombre, **Semilleros Med**, se plasman nuestros propósitos y objetivos fundamentales:

Crear en el estudiante la cultura de publicar y la necesidad de divulgar los resultados obtenidos y de adquirir nuevos conocimientos, como parte de su propio entrenamiento académico.

Motivar a la población estudiantil a que desde el inicio de su actividad académica participe activamente en la producción de actualizaciones médicas y trabajos de investigación científica.

Facilitar la difusión de las actualizaciones en las diferentes áreas de salud, de tal manera que se estructure una comunidad académica científica, integral y dinámica.

Los estudiantes de la Facultad de Medicina de la Universidad Militar Nueva Granada presentan con gran orgullo y compromiso su revista **Semilleros Med**, facilitando que nuestra institución y toda su comunidad académica continúen por la senda que lleva al encuentro de la trascendencia y la excelencia.

¡Bienvenida, **Semilleros Med**!

## EDITORIAL

MAYERLI RODRÍGUEZ MARTÍNEZ  
EDITORA REVISTA «Semilleros Med»



Hace seis meses dimos comienzo a este proyecto, para entonces no imaginábamos la dimensión que tenía el hecho de formar una revista, iniciar desde cero y empezar a definir las bases que delimitarían lo que queríamos de ella, aún sin experiencia, pero con mucho entusiasmo. El grupo conformado por tres estudiantes de la Facultad de Medicina, bajo la tutoría de la Dra. Doris Gómez y el apoyo inicial del Dr. Héctor Posso, tomó las riendas para liderar la construcción hasta conformar, junto a excelentes profesionales de la salud de talla nacional e internacional, un grupo idóneo y experto que respalda la calidad de las publicaciones.

Esta revista surge entonces, ante la idea de abrir un espacio donde los estudiantes puedan publicar los trabajos realizados con calidad digna de publicación; para que con el tiempo se cree una cultura científica motivada por el sentido mismo de investigar, y que estos trasciendan más allá de la necesidad de obtener una buena calificación. Es así como el Dr. Juan Miguel Estrada, Decano de la facultad y el Comité de Publicaciones de la **Revista Med** se interesaron y ampliamente nos apoyaron en este proyecto.

Para empezar, necesitábamos saber qué nivel manejan las publicaciones estudiantiles médicas nacionales con el fin de formarnos una idea de lo que queríamos lograr y establecer metas de calidad; nuestra sorpresa al ver la gran cantidad de universidades que manejan este tipo de ediciones y su larga trayectoria, fue muy grande; entonces nos preguntamos por qué tardamos tanto en conformarla, teniendo así un motivo más para sacar este proyecto adelante, con todo el interés y voluntad.

Lo primero fue determinar la misión, visión y objetivos, pues para comenzar es fundamental tener claro lo que queremos y hacia donde buscamos proyectarnos; definida nuestra premisa seguimos con el punto en el que invertiríamos gran parte de nuestro tiempo, la guía de autores. No era tan fácil definir que requisitos debían cumplirse para garantizar que los artículos publicados fuesen de alta calidad, veraces, respaldados en revisiones exhaustivas y actualizadas que hagan de éstos un apoyo académico y permitan a los estudiantes desarrollar habilidades narrativas, de interpretación en la investigación y de participación en ellos, acorde con una época que nos exige cada día estar un paso adelante.

Entre más reuniones teníamos, más nos dábamos cuenta de cuánto nos faltaba, cuántas ideas por desarrollar y obstáculos que sortear, y fue allí cuando la experiencia del grupo de **Revista Med** hizo su aporte enriquecedor a la evolución de este proyecto.

Al pensar en cual sería la portada de la publicación decidimos que sería realizada y seleccionada por los estudiantes, entonces se abrió una convocatoria en septiembre, y para mediados de octubre se eligieron las propuestas de Henry Hincapié y Luis Fernando Sastre quienes en conjunto diagramaron el diseño de la carátula que identifica la revista.

En todo este tiempo de trabajo descubrimos la dedicación que requiere editar una revista, de la importancia del trabajo en equipo y de todo lo que se puede aprender en actividades extracurriculares como esta.

Tal vez contarlo es mucho más fácil de lo que fue hacerlo, pero la gran satisfacción que nos dejó y todo lo que aprendimos solo demuestra que valió la pena todo el esfuerzo.

Finalmente extendemos la invitación a todos los estudiantes, docentes y profesionales de la salud que conforman la comunidad académica a participar activamente en esta nuestra revista neogranadina «**Semilleros Med**», como publicadores o miembros del Comité General de la revista, y a visitar el link de publicaciones en la página web de la universidad y enviarnos sus comentarios al correo electrónico: [semilleros.med@umng.edu.co](mailto:semilleros.med@umng.edu.co).

# BÚSQUEDA DE SECUENCIAS CONSERVADAS IMPLICADAS EN REACCIONES LIGANDO RECEPTOR DE LA GLUCOPROTEÍNA 120 DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

PAUL RAINER GIS CASTRO<sup>1</sup>, ENRIQUE SALCEDO<sup>2</sup>

## RESUMEN

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH), produce el síndrome de inmunodeficiencia humana (SIDA), estudiado por muchos y que sigue siendo un flagelo para el mundo. Actualmente existen grandes avances que buscan mitigar su alcance, pero ninguno de ellos llega más allá de tratamientos que controlan pero que no erradican la enfermedad debido a la alta mutabilidad del virus en su replicación.

Esta investigación se basa en la hipótesis de que pese a la variabilidad de este virus, debe tener algo constante en su glucoproteína de adherencia a membrana (gp120) para seguir teniendo el mismo efecto sobre las células humanas. Por eso se realizó una búsqueda de todas las proteínas de adherencia publicadas y disponibles con el fin de secuenciarlas y encontrar algún tipo de patrón o de aminoácidos constantes en ellas.

Se encontraron 9 aminoácidos constantes para todas las proteínas estudiadas, los cuales no formaban parte de los sitios de adhesión de la gp120 a la célula. Pese a que hubo muchos limitantes a la hora de recopilar información, el estudio da un punto de vista diferente respecto a soluciones posibles para el control del SIDA que podría seguir siendo estudiado.

**Palabras clave:** HIV, AIDS, GP120, HAART.

## INTRODUCCIÓN

El virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) consta del tipo 1 (HIV-1) y el tipo 2 (HIV-2), este infecta al hombre produciendo el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida humana (SIDA). La patogénia de la infección ha sido mejor descrita en el HIV-1 debido a su incidencia mundial. Los síntomas iniciales se relacionan con los del resfriado común, seguidos por una fase asintomática de larga duración con baja viremia a nivel plasmático. El conteo de linfocitos CD4+ en sangre periférica decrece progresivamente a cifras menores al 20% del valor normal en los siguientes 8 a 10 años; dando lugar a que infecciones oportunistas se presenten. La infección por HIV puede ocurrir

por contacto sexual con un individuo infectado, por compartir jeringas contaminadas, por transfusión de sangre o sus derivados de un sujeto infectado y de madre a hijo en la gestación o en el periodo de lactancia (1,2,3).

El virus HIV-1 incluye tres grupos, denominados M, N y O, genéticamente divergentes pero comparten la organización genómica. Poseen *vif*, *vpr*, *vpu* (genes reguladores) y el fragmento de lectura (reading frame) del gen *nef* no se sobrepone al gen *env* como si ocurre en el HIV-2. El HIV-2 se concentra en el África occidental donde el HIV-1 también se encuentra. HIV-1-O y HIV-1-N se encuentran en Camerun y la parte occidental de África central. El

<sup>1</sup> Estudiante Noveno Semestre. Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>2</sup> Ph.D. Universidad de Liverpool.

Dirección electrónica para correspondencia: 0400344@umng.edu.co

HIV-1-M está ampliamente distribuido por toda el África. En el norte de América junto con el caribe la prevalencia está dada por HIV-1-B, con unos pocos casos reportados de infección por otros subtipos, como HIV-1-O y HIV-2. En Sur América, Brazil y Argentina, hay alta prevalencia de HIV-1-B con un 10% de casos reportados de infección por el subtipo F, un 1% del subtipo C y algunos casos esporádicos por HIV-2 (1).

## ESTRUCTURA Y GENOMA DEL HIV

El genoma del HIV se compone de dos cadenas idénticas de ARN, cada una de 9.2 kilobases de longitud, ubicadas dentro de una cápside de proteína viral rodeada de una bicapa fosfolipídica derivada de la membrana celular del hospedero, incluyendo proteínas de este y otras virales. Su genoma cuenta con repeticiones terminales largas (LTR) que regulan la integración, expresión génica y replicación viral. Los genes (9 en total: *gag*, *pol*, *env*, *vif*, *vpr*, *tat*, *rev*, *vpu*, *nef*) codifican la maquinaria viral (3).

### Fases de la replicación viral

El complejo *env* se compone de una subunidad transmembrana gp41, y una subunidad externa asociada no covalentemente, la gp120. El complejo *env* se expresa en forma trimérica de tres pares de gp120/gp41. La gp120 se une a receptores CD4+ encontrados en los linfocitos T (LT) (aunque también se encuentran en macrófagos, monocitos y células dendríticas). Esta unión genera un cambio estructural y produce la unión por medio de una región variable (loop V3 y en menor medida por V1 y V2) a un receptor de quimoquinas (receptores CXCR4 o CCR5) ubicado en la membrana de las células blanco. El cambio conformacional de gp120 tras la unión a CD4 expone regiones variables, se ha identificado una región constante entre V3 y V2 que está también involucrada en la unión al correceptor. Se conocen tipos de virus de unión a células por medio de los correceptores CXCR4 y CCR5 independientemente de una unión previa con un receptor CD4, como lo hace el virus de la inmunodeficiencia en simios (SIV) (14). Este tipo de virus desarrolla una respuesta inmune mejor debido a que su sitio de unión a células está constantemente expuesto (a diferencia de lo que ocurre con HIV-1 y HIV-2) para que se genere inmunidad de tipo humoral más eficiente. La gp41

sufre un cambio conformacional con el cual expone una región hidrófoba tras la unión de gp120 a CD4 y CCR5, conocida como péptido de fusión, que se inserta en la membrana celular de la célula blanco y permite la fusión con la membrana viral. Se han intentado mecanismos de inhibición de la fusión de las membranas por medio de péptidos que se unen a la gp41 limitando su cambio estructural y evitando su unión con la membrana blanco. El péptido llamado T20, quien se une a la gp41 demuestra físicamente que puede reducir la replicación viral en un sujeto infectado (14).

Una vez es insertado el material viral, su genoma es integrado al genoma del hospedero por medio de la transcriptasa inversa. La expresión viral continúa en dos pasos, primero son codificadas las proteínas de regulación, Tat, Rev y Nef (derivadas de sus respectivos genes *tat*, *rev* y *nef*) y segundo, ocurre la producción de los productos génicos Gag, Env, Vif, Vpr y Vpu, involucrados en la formación de la partícula viral produciendo nuevos viriones que se acumulan en la célula. Durante este proceso, se producen también proteínas virales (como la gp120) que se acumulan en la membrana de la célula facilitando la fusión con otros linfocitos, creando sitios con capacidad de reproducción viral en su interior. El proceso de replicación viral al interior de la célula es regulado por el gen *nef*, donde luego la célula muere y libera los viriones para continuar con el ciclo infeccioso (3).

### Variabilidad del HIV

La variabilidad del HIV es debida al alto grado de error que posee la transcriptasa inversa, generando aproximadamente una mutación por ciclo de replicación. Dicha variabilidad es tan alta que se incrementa comparando aislados de distintos individuos, y aumenta en muestras de distintas locaciones geográficas. Con el genoma mutado, sus productos proteicos mutaran de manera similar. La gp120 y la gp41 asociadas a la membrana del virus son unos de los genes más polimórficos. Debido a que estas proteínas no mantienen integridad estructural y varían en cada ciclo de replicación, el sistema inmune no puede montar una respuesta protectora celular o humoral. Se han estudiado casos donde la cantidad de anticuerpos monoclonales secretados a manera de respuesta antigénica muchas veces también genera respuestas de manera autoinmune (1,4).

## Terapia antirretroviral

El tratamiento de pacientes infectados por medio de inhibidores de la transcriptasa inversa combinado con inhibidores de la actividad proteasa (HAART, lo que significa, tratamiento antirretroviral de gran actividad) ha sido ampliamente usado. Los resultados han sido varios, pero el fin común es la reducción de concentración viral a nivel plasmático mas no la erradicación de este. Otra propuesta se refiere a la función de los receptores de quimoquinas CXCR4 y CCR5. Investigadores han intentado sintetizar homólogos estructurales (llamados bicyclam) que compiten con el HIV por la unión a la célula e impiden la unión. La molécula SCH-C tiene como blanco el receptor CCR5 y su administración puede hacerse de manera oral, sus pruebas hasta ahora se han hecho en animales pero se espera empezar pronto pruebas en humanos. Otro prototipo de bicyclam es AMD3100 cuyo tropismo es por CXCR4 y su administración es intravenosa. Se cree que una terapia desarrollada con estas moléculas junto con competidores de la gp41 tales como el T-20 o el T-1249, genere una respuesta satisfactoria en la reducción del HIV en pacientes infectados. El problema ético de estas terapias es la calidad de vida que tendría el paciente. El T-20 por ejemplo debe administrarse 2 veces diarias por medio de inyección para lograr alcanzar unas concentraciones séricas apropiadas, o los bicyclam, que su vida media es de aproximadamente de 3 días, tendrían necesariamente que ser administrados de manera continua para lograr un resultado esperado. No se sabe hasta ahora las repercusiones que las dosis puedan tener, ya que la administración parenteral ha generado inflamación en el sitio de la inyección en algunos de los pacientes. Sumado a lo dispendioso de la terapia, esta la certeza de que no es posible erradicar la infección sino reducirla a un nivel basal donde se conserve estable, limitando las posibilidades a que la replicación solo se detenga por unos años más, pero no evitando que su continuidad sea persistente. Otro mecanismo que buscó desarrollarse fue la terapia basada en la producción de siRNA específico para mRNA virales del HIV. La idea era crear RNAs de interferencia (iRNA) que interrumpieran el ciclo de replicación viral a nivel intracelular mediante la intervención del proceso llevado por de la transcriptasa inversa. Inicialmente se pensó útil, pero el problema encontrado fue la capacidad mutacional; tal capacidad determinaba el constante cambio y limitaba cada vez más la funcionalidad de estos iRNA al punto de hacerlos inútiles (5-9).

## Gp120/41

La gp120/41 (de 876 aminoácidos)(11) proviene de la escisión proteolítica de la proteína gp160; producto final del gen *env* (comprendido entre 6260-8890 pares de bases del genoma del HIV)(12). Su función descrita antes, es la de unir a la partícula viral a la célula para producir la infección. La secuencia de aminoácidos de la gp120 contiene 5 regiones variables (V1 a V5) alternadas con regiones altamente conservadas; pero estas regiones variables son las que tienden a quedar expuestas en la superficie viral (fig 1) aún así se haya dado la unión entre la gp120 y el CD4 del linfocito. El diseño entonces de un inhibidor de la entrada viral debe tener en cuenta la estructura tridimensional final de la proteína y la variabilidad de la secuencia; pero tal diseño no se puede basar en la observación de las secuencias de manera lineal ya que este dato no predice la actividad in vivo (14). Las secuencias en el loop V3 están relacionados con la fusión de las membranas debido a que por medio de estas se genera la unión de la gp120 al quimiorreceptor una vez se ha hecho el cambio estructural generado por la unión previa al CD4 (13). La gp41, segmento transmembrana de la gp160, actúa en el proceso de fusión de membranas cuando la gp120 esta unida tanto al CD4 como al quimiorreceptor (CCR5 o CXCR4). Su variabilidad también es alta, pero es limitado encontrar en ella secuencias conservadas ya que su disposición transmembranal se hace visible una vez la gp120 ha hecho cambio conformacional al haberse unido al CD4 y al receptor de quimoquinas (14-17). El encontrar secuencias conservadas en la gp120 útiles en el proceso de unión a CD4, da la posibilidad de buscar estructuras sintéticas que abarcarán el patrón encontrado y compartiera su conformación estructural, generando así una respuesta humoral eficaz, mientras que una respuesta ante la gp41 implicaría su exposición previa; fenómeno ocurrido cuando la gp120 está unida a la célula, elevando la posibilidad de infección en caso de fracaso. Como se mencionó anteriormente, existen partículas que se unen y limitan la actividad de la gp41 en la fusión de las membranas (como el T20), pero sucede que su acción no es del todo satisfactoria debido a que la infección es controlada, pero no erradicada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Compilación de secuencias de la proteína gp120

Se realizaron búsquedas en la base de datos del NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) las cuales arrojaron 14040 resultados para la palabra “gp120”. La depuración se hizo necesaria debido a que los resultados obtenidos de esta búsqueda inicial contenían información no pertinente a la investigación. Se procedió a continuar con nuevas búsquedas en donde una tras otra se eliminara lo innecesario de la anterior.

- Gp120 NOT inmunoglobulin: arrojó los mismos 14040 resultados iniciales. A esta búsqueda se le encontraron resultados de gp120 de *homosapiens*.
- Gp120 NOT inmunoglobulin NOT homosapiens NOT partial: 1010. En este resultado se encuentra el genoma completo del HIV-1 (NC\_001802). Sin embargo, se evidencia la presencia de secuencias referidas a *Drosophila*, a rata, de mycobacteriofago y de mixoma entre otros.
- Gp120 NOT inmunoglobulin NOT homosapiens NOT partial NOT rattus NOT mycobacteriophage NOT drosophila NOT mixoma: 990 resultados. Se encuentran secuencias con patente.
- Gp120 NOT inmunoglobulin NOT homosapiens NOT partial NOT rattus NOT mycobacteriophage NOT drosophila NOT mixoma NOT patent NOT synthetic NOT mimusculus NOT macaca NOT E.colli NOT similarity to rat: 654 resultados.

Usando lenguaje PERL, se programó una búsqueda interna dentro de la base de datos obtenida buscando depurar aún mas la información con el fin de obtener los archivos o secuencias cuyo título de reporte comprendiera solamente la palabra “gp120”. Este paso dejó finalmente 415 secuencias, las cuales posteriormente serían sometidas a un nuevo filtro por el cual sólo 314 secuencias fueron elegidas finalmente como base de datos de la investigación debido a que en su reporte de secuencias de aminoácidos contenían también el código de acceso a su respectiva secuencia de nucleótidos. Se hizo entonces una base de datos donde se involucraba el número de acceso de cada reporte de los 314 escogidos emparejado con el código de acceso a la secuencia de proteínas derivada de la misma secuencia de nucleótidos. Este ordenamiento se realizó en Excel donde también se añadió a cada secuencia, o al menos los que lo involu-

craran, una columna con el número de pares de bases con el que cada una está conformada; esto con el fin de contemplar un número de referencia a saber de contenido en cada uno de los casos y determinar así una idea del tamaño en general para cada una. Aparte de esta base de datos gravada en archivo Excel, se creó también un archivo con formato GenProt donde se encuentran todas las secuencias mencionadas junto con un formato Fasta donde se permite tener gravada cada secuencia con su título (ambos tipos de archivos son proporcionados por la página web de la ncbi [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). En Partial order Aligment (POA) ([www.bioinformatics.ucla.edu/poa/](http://www.bioinformatics.ucla.edu/poa/)) se hizo el alineamiento del archivo FASTA con las 314 secuencias obteniendo el resultado en formato CLUSTAL. Posteriormente, una siguiente depuración debió hacerse debido a que estas 314 secuencias se diferenciaban entre ellas en cuanto a cantidad de aminoácidos se refiere. Se encontraban en el mismo archivo secuencias de 112 aminoácidos en promedio al tiempo que secuencias de 35 aminoácidos. Esta última cantidad resultaba ser demasiado pequeña para realizar un análisis provechoso comparado con el tamaño de las otras secuencias, así que esta nueva depuración debió hacerse por medio de la limitación de las secuencias a un mínimo de 300 nucleótidos en la secuencia de origen de cada una de ellas, este paso redujo la cantidad de secuencias a un total de 108. Con estos resultados, se procedió a dividir en grupos el alineamiento de las secuencias de modo de que cada uno de ellos contemplara cierto número de secuencias relacionadas entre sí, donde cada una de ellas compartiera el punto de origen o procedencia junto con otra cantidad de secuencias (Tabla 1). Una vez conseguidas las secuencias de esta última depuración, se llevaron a un alineamiento en el POA donde se obtuvieron los respectivos gráficos (Fig 1) junto con los formatos CLUSTAL para el análisis. Los resultados se vieron mucho más específicos para su estudio.

### Correlación con proteínas cristalizadas

Se hizo una búsqueda de proteínas cristalizadas en Protein Data Bank (PDB) ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) donde bajo las palabras “gp120 NOT gp41” hubo 54 resultados. Se seleccionaron aquellos resultados que, aparte de tener a la gp120, comprendieran en su cristalización al CD4 y a un Ac unidos a ella con el fin de facilitar el análisis posterior por medio de los sitios de unión ligando receptor entre las mencionadas

TABLA 1. División de las secuencias escogidas en grupos seleccionados por su procedencia. Se muestran también la cantidad de secuencias involucrada en cada grupo junto con el promedio de aminoácidos en cada uno de ellos.

Grupo	Número de secuencias	Cantidad de aminoácidos (promedio)	Procedencia
Grupo 1	39 secuencias	112	China
Grupo 2	59 secuencias	110	Frontera entre China y Vietnam
Grupo 3	10 secuencias	112	Cuba
Grupo 4	1 secuencia	321	<i>Drosophyla melanogaster</i>

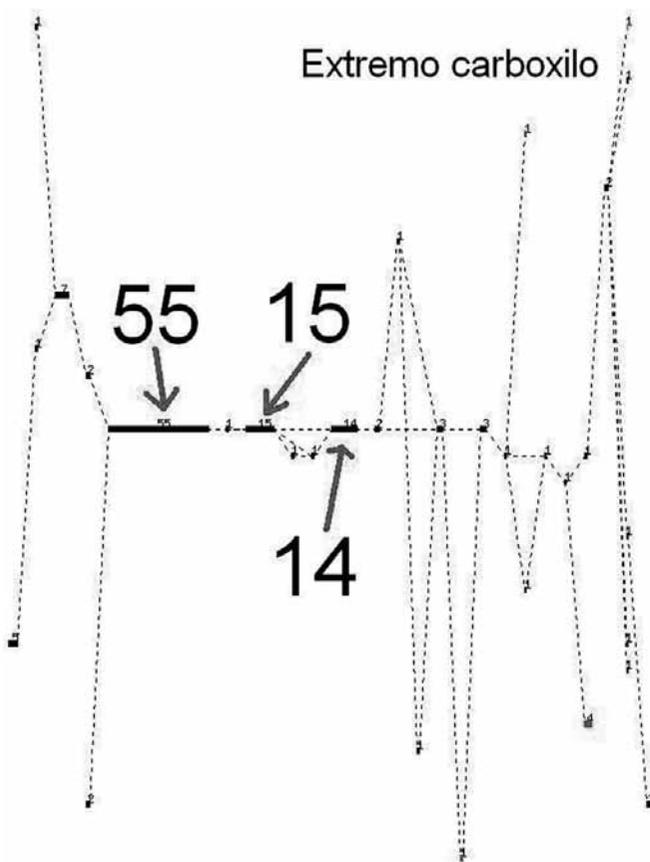


FIG 1. Alineamiento de las 109 secuencias. Se involucra en este alineamiento a la secuencia de la gp120 obtenida del archivo 1GC1. Se observan diferencias en tamaño en 2 aminoácidos entre los residuos cercanos al segmento aminoterminal, también es visible un segmento conservado de 55 aminoácidos seguido de uno de 15 y otro de 14, estos últimos están separados por diferencias de un aminoácido menos en la secuencia. En el extremo carboxiterminal las secuencias se aprecian poco conservadas; su alineamiento muestra diferencias de 1 y 3 aminoácidos a lo largo de ellas.

moléculas. Se seleccionaron finalmente 4 proteínas reportadas que cumplieran estas características (Tabla 2). El archivo usado en el análisis fue 1GC1, el cual cumplía a con los parámetros anteriormente mencionados, comprendiendo la unión de la gp120 al CD4 y, aparte, una unión a un Ac lograda a partir del cambio conformacional de la gp120 generado por su unión al CD4; a este Ac se le denomina entonces iAc, debido a que su actividad resulta de la inducción del cambio conformacional procedente de la unión gp120-CD4. Con Deep/Swiss-Pdb Viewer ([av.expasy.org](http://av.expasy.org)) se procedió a observar las moléculas cristalizadas. Se continuó entonces con la ubicación de los puentes de hidrógeno involucrados en las uniones de la gp120 con el Ac y de la gp120 con el CD4. Era importante encontrar también los aminoácidos cercanos a los aminoácidos previamente ubicados para poder tener localizaciones de residuos ligando receptor en el alineamiento múltiple. Una vez obtenidos, se procedió a buscar en la primera base alineamiento múltiple de datos estas secuencias con el fin de encontrar posibles similitudes entre ellas respecto a estos residuos ligando receptor. Aparte, bajo la publicación del artículo de la proteína utilizada en el anterior análisis, se usaron también los aminoácidos reportados en dicho artículo como implicados en la unión de la gp120 con el CD4 y el iAc para hacer con ellas una correlación al igual a las que se encontraron con ayuda del programa (14).

## RESULTADOS

El resultado de la primera depuración concluyó en 314 secuencias con diversas características entre ellas, 99 secuencias fueron reportadas en un estudio epidemiológico realizado en China (15) cuyos sujetos de estudio eran pacientes que usaban drogas intravenosas (IDU); otras 138 secuencias provenían de

TABLA 2. Archivos seleccionados y sus características

Código de acceso	Características
1GM9	Env glicoproteína gp120 HIV-1 Hxbc2 en complejo con CD4 y un Ac neutralizante 17b inducido.
1G9N	Env glicoproteína gp120 HIV-1 Yu2 en complejo con CD4 y un Ac neutralizante 17b inducido.
1GC1	Gp120 base del HIV-1 en complejo con CD4 y un Ac neutralizante humano.
1Q1J	Análisis de estructura cristalizada de Anti-HIV-1 Fab 447-52D en complejo con V3 péptido 48 D
1RZ7	Estructura cristalizada de un Ac humano Anti-HIV-1 gp120

un seguimiento de variantes del HIV obtenidas de la frontera entre China y Vietnam (16); y las últimas 77 son de un reporte acerca del HIV circulante de La Habana, Cuba (no documentado). Lamentablemente no todas las secuencias reportadas contenían el mismo tamaño, así que fue necesaria una nueva depuración. Este paso concentró secuencias provenientes de los grupos referidos, junto con la secuencia de la gp120 contenida en el complejo gp120 unido a CD4 y al iAc encontrado en el archivo 1GC1 (Tabla 1). Se consiguieron en total 39 secuencias provenientes del grupo referido al estudio en China, 59 del grupo de la frontera de China y Vietnam, 10 del grupo de La Habana, y por último, la secuencia del archivo 1GC1. Después de haber conseguido concretar las secuencias se procedió con el respectivo

alineamiento. Este resultado originó los respectivos CLUSTAL para realizar el análisis junto con la gráfica del proceso (Fig 1).

La búsqueda de los puentes de hidrógeno en la molécula por medio del programa Deep/Swiss-Pdb Viewer relacionados con la unión de la gp120 al iAc y al CD4 arrojó 4 y 5 aminoácidos respectivamente (tabla 3). Por medio de la revisión del artículo referente a la molécula cristalizada se usaron los aminoácidos allí reportados involucrados en la unión de gp120 al CD4, estos fueron siete en total (ASP368, GLU370, ASN 425, MET426, TRP427, VAL430 Y GLY473). Para hacer el debido análisis sobre un alineamiento final, fue necesario buscar estos aminoácidos en las secuencias previamente alineadas. Se procedió

TABLA 3. Aminoácidos involucrados en las uniones entre la gp120, el CD4 y el Ac por medio de puentes de hidrógeno en la molécula cristalizada 1GC1 con sus respectivos receptores en el Ac y en el CD4. Aminoácidos cercanos a los involucrados en la unión por puentes de hidrógeno entre el Ac y la gp120

Aminoácidos en gp120	Aminoácidos en Ac	Aminoácidos en CD4	Aminoácidos cercanos en gp120
THR202	HIS59		VAL200, ILE201, GLN203, ALA204, CYS205
ARG419	GLU106		PRO417, CYS418, ARG419, ILE420, LYS 421,
GLN422	TYR109		ILE420, LYS421, GLN422, ILE424
ILE423	GLY107		GLN422, ILE423, ILE424, ASN425
SER365	ASN52		
ASP368	ARG59		
ASP279	LYS29		
ASN280	GLN33		
ASP474	GLN25		

entonces a realizar el alineamiento con la secuencia de la gp120 involucrada en el archivo 1GC1. Se obtuvo entonces un archivo con 109 secuencias. Los resultados obtenidos se vieron comprometidos ya que la 1GC1 contenía muchos más aminoácidos que las demás secuencias; (321 en total, a diferencia de los 112 en promedio de las otras 108 secuencias involucradas) debido a que se trataba de una gp120 manipulada a partir de la combinación y el ligado de diversas cadenas de otras gp120, y por medio de la sustitución de péptidos en el proceso de deglicocilación con el fin de reducir la heterogeneidad de la partícula para que fuera mas posible la cristalización. En la gráfica de alineamiento se aprecian entonces espacios formados por los aminoácidos que no se comparten entre las secuencias de los grupos y la del 1GC1.

Se tomaron entonces los aminoácidos obtenidos por medio de las uniones por puentes de hidrógeno y los reportados en el artículo del 1GC1 y se ubicaron en conjunto en la gráfica de alineamiento con el fin de observar si alguno de ellos coincidía con los espacios mencionados anteriormente. Estos aminoácidos se encontraban ubicados en segmentos variados, los que estaban implicados en la unión de la gp120 al CD4 (Tabla 3). Pertenecen al motivo de unión de la gp120 con el CD4 descrito por un área de 742 angstroms+ del CD4 y 802 angstrom+ de la gp120, aunque la superficie de contacto sea muy reducida, las uniones se logran por la conformación topológica de las estructuras que consigue darle la facilidad de unión a las moléculas por medio de 22 residuos de CD4 y 26 residuos de aminoácidos de gp120. Lamentablemente algunos de los aminoácidos encontrados por inspección junto con los que se reportaron en el artículo se encontraban en estos

espacios (**THR202, SER365, ASP368, GLU370, ASN425 y MET426**) pero los restantes (**ARG419, GLN422, ILE423, ASP279, ASN280, TRP427, VAL430, GLY473 y ASP474**) que estaban ubicados dentro de los fragmentos peptídicos que sí, presentaban alineamiento entre todas las secuencias incluyendo la de 1GC1 (Tabla 4). Por otro lado, se hizo un grupo con todos los aminoácidos cercanos a los involucrados en las uniones por puentes de hidrógeno consiguiendo así pequeñas secuencias que fueron posteriormente buscadas en las secuencias de la base de datos que comprendía las 314 secuencias bases, ninguna de ellas se logró ubicar.

Los aminoácidos mencionados, pertenecían a fragmentos comprendidos entre los residuos V1/V2, los segmentos beta15 alfa3, beta20 beta21, beta 23 y beta24 alfa 5 de la gp120 en el BRIGING SHEET (Fig 2) o sitio de unión al CD4, y debido a esta unión, la proteína cristalizada ya presenta de antemano el cambio conformacional ocurrido por este evento. Por lo tanto, los aminoácidos de la unión de la gp120 al iAc están presentes en el loop V3, incluyendo también parte de los fragmentos V4 y V5, los cuales son también de alta variabilidad.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con la base de datos inicial de 314 secuencias obtenidas, se observó un selecto grupo que al parecer no tenía mucha variabilidad regional. La división por procedencia geográfica sólo se limitó a grupos procedentes de China, frontera de China con Vietnam y Cuba. Del cuarto grupo no se conocía el origen pero se destacaba de los demás debido a que su procedencia no era humana. Como es visible entonces,

TABLA 4. Alineamiento de las secuencias junto con la secuencia de la gp120 contenida en el complejo 1GC1. Se resaltan los aminoácidos contenidos en la mayoría de las secuencias junto con los que sólo están presentes en los segmentos de 1GC1 que no se comparten con las secuencias de los grupos uno dos y tres. A) secuencia de gp120 reportada en 1GC1: en negrilla los aminoácidos reportados en el artículo correspondiente implicados en la unión de gp120 al CD4. Los aminoácidos que se encuentran subrayados son los encontrados por medio del Deep/Swiss-Pdb Viewer, implicados en la unión al CD4 por medio de puentes de hidrógeno. Los 9 aminoácidos en cursiva y con contorno son los encontrados en todas las secuencias después del alineamiento.

GARSEVVLVNVTFENFMWKNMVEQMHEIISLWDQSLKPCVKLTPLCVGAGSCNTSVITQACPKVS  
 FEPIPIHYCAPAGFAILKCNKTFNGTGPTNVSTVQCTHGIRPVVSTQLLLNGSLAEEEVVIRSVNFTD  
 NAKTIVQLNNTSVEINCTGAGHCNISRAKWNNLTKQIASKLREQFGNNKTIIFKQSSGGDPEIVTHSFN  
 CGGEFFYCNSTQLFNSTWFNSTWSTKGSNNTEGSDTITLPCRKQIINMWQKVGKAMYAPPISGQIRCS  
 SNITGLLLTRDGGNSNNESEIFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIE

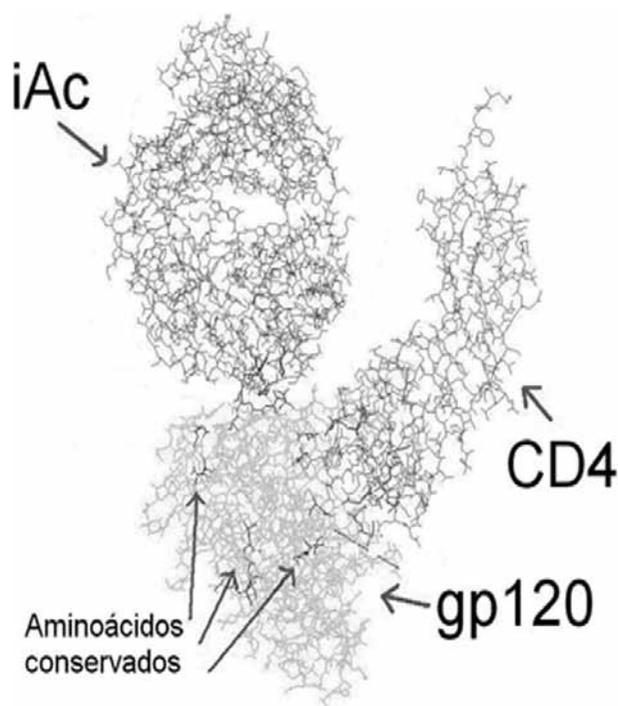


FIG 2. Esquema estructural del complejo gp120, CD4 e iAc. Se resaltan los aminoácidos comprometidos en las uniones entre las partículas gp120, CD4 e iAc. También se señalan los aminoácidos conservados en todas las secuencias involucradas en el alineamiento.

las secuencias se pueden encasillar en dos grandes regiones, China y Cuba, que aunque por ventaja territorial, sus ubicaciones las hacen lejanas una de la otra, esto logra crear un espacio satisfactorio si se piensa en que se necesitan secuencias lo más distintas entre ellas, pero sin embargo, no representan en conjunto una gran variabilidad de secuencias virales necesarias para correlacionar el análisis con lugares como el África, donde se mencionó hay 9 subtipos de HIV.

Una vez obtenida la base de datos con las 314 secuencias, se necesitó realizar nuevamente una depuración a causa del tamaño requerido para realizar un análisis adecuado. Este suceso redujo sustancialmente la cantidad de secuencias a estudiar, y se pasó de 314 a un total de 109, lo que conllevó a que aunque la investigación necesitara de secuencias escogidas con sumo cuidado y limitadas bajo unos criterios; no tuviera un alcance objetivo bajo la idea de cobijar gran variabilidad de cadenas de gp120 a nivel mundial, y los resultados, por ende, fueron limitados también; quedando 9 aminoácidos como producto final de búsqueda (tabla 4).

En la búsqueda inicial de la base de datos a estudiar, se realizaron ciertas depuraciones con el fin de obtener secuencias de gp120 específicas para humano. El problema que se presentó con la secuencia de la gp120 proveniente del archivo 1GC1 pudo deberse a que esta secuencia fue cristalizada del HXBc2, sepa del HIV-1 clonada en la célula de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*), y este tipo de secuencias fueron desechadas en el proceso de depuración inicial. Por otro lado, el hecho de haberse basado en una secuencia que naturalmente no comprendía muchas similitudes con sus homólogas en humanos, pudo haber generado la situación de encontrar aminoácidos relacionados con la unión de esta al CD4 y al iAc completamente distintos a los encontrados en las cepas de HIV humanas, pero cabe agregar que algunos de ellos si se conservaron y se encuentran presentes, incluyendo tanto las del HIV-1 de humano como la del 1GC1 de *Drosophila*, tal es el caso de los aminoácidos CYS296, GLY298, GLY329, CYS331 (tabla 4). De estos cuatro aminoácidos encontrados, dos de ellos, GLY298 y GLY329, se encuentran en un fragmento llamado gag; este fragmento se encuentra reemplazando a treinta y dos residuos del Loop V3 implicado en la unión de la gp120 al iAc. Este evento limita las posibilidades de relacionar estos aminoácidos como encontrados en común con las demás secuencias debido a que el fragmento gag surgió en la proteína cristalizada a partir de la deglicocilación mencionada anteriormente. Los dos restantes, CYS296 y CYS 331, se encuentran en las cadenas beta-12 y beta 13, respectivamente, regiones determinadas en el proceso de cristalización de la partícula contenidas en las 25 cadenas beta, cinco hélices alfa y diez segmentos loop bien definidos. Los segmentos beta-12 y beta-13 limitan el mencionado loop V3, lo que le da particular importancia a que estos dos aminoácidos estén presentes en las secuencias estudiadas.

Dado a que por medio del programa de lectura de archivos de proteínas cristalizadas (Deep/Swiss-Pdb Viewer) se logra manipular satisfactoriamente la molécula a estudiar, en este caso 1GC1, cabe agregar que aunque se usaron los servicios que este programa ofrece, como lo fue la búsqueda de los aminoácidos involucrados en las uniones de la gp120 con el CD4 y el iAc por medio de la determinación de los puentes de hidrógeno, y subsecuentemente la ubicación de los aminoácidos cercanos a estos; sin embargo, los resultados de esta búsqueda se alejaron sustancialmente de los reportados en el artículo estudiado referente a 1GC1. En esta publicación no se habla en ningún

momento de como se obtuvieron los residuos a los que allí se hace referencia, situación que ofrece pocas posibilidades a la hora de proceder bajo el mismo mecanismo de acción en la búsqueda de aminoácidos situados en los puntos de unión. Por otro lado, como se mencionó anteriormente, la proteína gp120 obtenida del 1GCI contiene 321 aminoácidos, 209 más que las demás secuencias de estudio, lo que generó dificultades a la hora de analizar los alineamientos, ya que se generaban espacios en donde ninguna secuencia compartía ningún residuo con ella. Este suceso obligó a buscar la procedencia de estos espacios, pero lamentablemente no fue posible aclarar su origen ya que en el artículo propio de esta sólo se limitan a describir la cadena y la estructura de la gp120 mas no a determinar cuales fueron los puntos en el que se llevó a cabo el truncado y la purificación de la partícula para hacer posible su cristalización.

Por alguna razón la secuencia **NSTQLFNSTWFNST WSTKGSNNTEGS** comprendida entre los aminoácidos 216 y 240 del CLUSTAL del alineamiento no concuerda con la estudiada obtenida directamente de la base de datos; esta por su parte contiene en ese mismo segmento la secuencia **CNSTQLFNSTWFG**.

Por medio del alineamiento de secuencias proteicas fue posible realizar estudios como el expuesto anteriormente, por el cual, se determinó un grupo de secuencias y se demostró que con los recursos necesarios, y gratuitos en este caso, se logró el objetivo principal. Aunque no se realizó un análisis bien estructurado debido a que el tiempo destinado para la investigación se agotó y al sesgo generado por una secuencia no pertinente en el trabajo y la limitada cantidad de secuencias usadas después de la última depuración, se consiguió obtener unos aminoácidos comunes a las secuencias seleccionadas y una sólida base de datos que puede ser usada nuevamente en estudios posteriores.

Por otro lado, el marco teórico recopilado durante el proceso del desarrollo de la investigación, evidenció que en el pasado se pretendió generar respuesta inmune humoral ante el HIV a manera de aislar posibles anticuerpos que neutralizaran la infección, pero no se buscó inducir una respuesta por el mecanismo de la búsqueda de secuencias conservadas en distintas cepas del HIV-1. Ante esto, queda la idea de continuar el estudio que no se concluyó con este trabajo y demostrar si es posible o no encontrar secuencias comunes en todos las gp120 reportadas

del HIV-1 con un marco de posibilidades de mayor envergadura.

## REFERENCIAS

1. Thomson R.C.A, Molecular Epidemiology of Infection Diseases, Ardnold editorial, Great Britain 2000, Chapter 11.
2. Rojas, W. Inmunología. Corporación Para Infecciones Biológicas. Doceava edición, 2003, capítulo 13.
3. Abbas, A, Lichtman, Pober, J, Inmunología Celular Y Molecular, Mc Graw-Hill Interamericana. Cuarta edición, 2002, capítulo 20.
4. Barney S Graham, Candidate AIDS vaccines, New England Journal of Medicine, 1995. pages 1333-1335.
5. Manhoar R. Furtado, Persistence of HIV-1 Transcription in peripheral-blood mononuclear cells in patients receiving potent antiretroviral therapy, New England Journal of Medicine, 1999. pages 1619-1621.
6. Patrick G. Yeni, Antiretroviral treatment for adult HIV infection in 2002, JAMA 2002, pages 223-228.
7. Joan S; AIDS researchers explore new drug options, JAMA, 2000, page 1125.
8. Moiz K, RNA interference- a new weapon against HIV and beyond, New England Journal of Medicine, 2002, pages 1364-1367.
9. Francois C, HIV drug resistance, New England Journal of Medicine, 2004. pages 1023-1028.
10. Xiaojiang G, Effect on a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to AIDS, New England Journal of Medicine, 2001, pages 1668-1675.
11. Gurtler, L.G., Human Immunodeficiency Virus type 1, complete genome, Accesion L20571.
12. Gurtler, L.G., envelope protein gp120/gp41, ACCESSION AAA44864.
13. Kilby M., Novel therapies Based on mechanisms of HIV-1 Cell entry, New England Journal of Medicine, 2003, pages 2228-2235.
14. Kwong P, structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody, Nature, 1998.
15. Yang R. On-going generation of multiple forms of HIV-1, intersubtype recombinations in the Yunnan province of China. AIDS, 2002.
16. Closely related HIV-1 CRF01\_AE variant among injecting drug users in northern Vietnam: evidence of HIV spread across the Vietnam-China border. AIDS Res. Hum. Retroviruses. 2001.
17. Pinter A., Conformational Changes Affecting the V3 and CD4-Binding Domains of Human Immunodeficiency Virus Type 1gp120 Associated with *env* Processing and with Binding of Ligands to These Sites. Journal of Virology, 1993, pages 5692- 5695.
18. Hioe C. Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 gp120 Presentation to CD4 T Cells by Antibodies Specific for the CD4 Binding Domain of gp120., Journal of Virology, 2001, pages 10950-10955.
19. Dey B., Neutralization of Human Immunodeficiency Virus Type 1 by sCD4-17b, a Single-Chain Chimeric Protein, Based on Sequential Interaction of gp120 with CD4 and Coreceptor. Journal of Virology, 2003, pages 2859-2865.
20. Dooms R., Trono D. The Plasma Membrane as a Combat Zone in the HIV Battlefield. Genes & Developmen, 2000.

## FACTORES HEREDITARIOS ASOCIADOS A MIOPIA EN UNA MUESTRA DE PACIENTES EN LA POBLACIÓN DE SOACHA, TRATADOS EN LOS ÚLTIMOS DOS AÑOS

JAVIER AMAYA<sup>1</sup>, LINDA ESQUIVEL<sup>2</sup>, NATALY GONZÁLEZ<sup>3</sup>, CLARA MARTÍNEZ<sup>4</sup>, DORIS GÓMEZ<sup>5</sup>

### RESUMEN

**Objetivo:** Establecer una relación entre la miopía degenerativa en el municipio de Soacha y la herencia familiar de la misma.

**Método:** Los factores hereditarios relacionados con la miopía degenerativa en la población de Soacha fueron analizados por medio de encuestas realizadas en una muestra de veinte pacientes escogidos aleatoriamente.

**Resultados:** El 85% de la muestra afirmó tener uno o más familiares que padecen alguna enfermedad ocular, y sólo el 15% de los pacientes encuestados refirió tener alguna enfermedad concomitante a la miopía.

**Conclusiones:** A partir de los resultados se dedujo que si existe una relación entre la aparición de miopía degenerativa y factores hereditarios aún no identificados en esta población.

**Palabras claves:** miopía degenerativa, emétrope, herencia, dioptría, locus.

### ABSTRACT

**Objective:** To establish a relationship among the degenerative myopia in the municipality of Soacha and the family inheritance of the same one.

**Method:** Hereditary factors related with degenerative myopia in population of Soacha were analyzed by means of surveys carried in a sample of twenty patients chosen aleatorily.

**Results:** 85% of the sample affirmed to have one or more family that suffer some ocular illness, and 15% of the interviewed patients only referred to have some concomitant illness to the myopia.

**Conclusions:** Starting from the results we deduced that exists a relationship between the appearance of degenerative myopia and hereditary factors but not yet exists identified.

**Keywords:** degenerative myopia, emmetropia, inheritance, diopter, locus.

En la miopía los rayos paralelos de la luz se enfocan frente a la retina. Por lo tanto, el punto remoto del ojo, que se encuentra en el infinito en la emetropia se localiza a una distancia finita definida, menor de 6 metros, de acuerdo con el grado de miopía. Por

ejemplo, en el enfermo de miopía de 1 dioptría, el punto remoto del foco bien definido se encuentra a 1 metro del ojo; a medida que la miopía aumenta, el punto remoto disminuye (1,2).

<sup>1</sup> Estudiante Quinto Semestre. Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>2</sup> Estudiante Quinto Semestre. Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>3</sup> Estudiante Quinto Semestre. Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>4</sup> Estudiante Quinto Semestre. Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>5</sup> Docente Facultad de Medicina Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia.

Dirección electrónica para correspondencia: jaan1008@gmail.com

Esta enfermedad puede ser causada por el aumento de tamaño del globo ocular (miopía axial) o por aumento de la fuerza del poder de refracción de los medios (miopía de refracción). La mayoría de los casos son de tipo axial y se ha demostrado que la herencia juega un papel muy importante (1,2).

La miopía suele aumentar desde los 10 años de edad y se nivela casi a los 25 años. El síntoma más frecuente es la incapacidad para distinguir objetos con claridad a distancia, por ejemplo el pizarrón en la escuela o las señales en la carretera. Es frecuente fruncir el ceño en un esfuerzo por ver mejor, debido a que la agudeza visual es más sutil efectuando una pequeña abertura palpebral similar a la "cámara de agujero"; esto permite alcanzar un foco semejante al de una lente, evitando que los rayos luminosos periféricos penetren al ojo, y así permitir la formación de una imagen más clara. (Esto aumenta la profundidad del foco y es semejante a "reducir" la abertura de una cámara). Esta acción de fruncir el ceño algunas veces provoca cefaleas por fatiga e irritación palpebral y con mucha frecuencia se interpreta como fotofobia (1,2).

Tratamiento: los lentes cóncavos que hacen divergir los rayos luminosos de tal modo que pueden enfocar en la retina, proporcionan al individuo miope una "visión normal", y no deben verse como una "muleta" que forma un hábito o cuyo uso debe limitarse. Los lentes correctivos para grados benignos de miopía (menos de 1 o 1.5 dioptrías) casi nunca se indican en niños que estudian en los primeros años de la escuela, ya que durante esta época las demandas para una visión precisa a distancia no son grandes (1,2).

El grado y progreso de la miopía no se afectan por el uso o la renuencia a usar lentes correctivos. Del mismo modo, los "ejercicios oculares" no ejercen efecto alguno, debido a que en esta forma no se puede alterar el tamaño del globo ocular o el poder de refracción de los medios (1,2).

La seudomiopía es una rara afección que se debe al espasmo de los músculos ciliares (espasmo de acomodación), lo cual hace que los rayos luminosos paralelos converjan a un foco frente a la retina, al igual que en la miopía verdadera. Esto se puede presentar como un esfuerzo excesivo de acomodación en la hiperopía no corregida, o puede ser un fenómeno histérico (1,2).

El diagnóstico se confirma con el relajamiento del espasmo (y la corrección de la miopía) mediante la

instalación de un medicamento ciclopléjico. La refracción sin el uso de este fármaco y la prescripción de lentes cóncavos solo hacen necesario un mayor esfuerzo de acomodación, lo cual aumenta el espasmo y por lo tanto el grado de seudomiopía (1-2).

La miopía degenerativa tiene una mayor frecuencia en el sexo femenino y en ciertas razas y grupos étnicos. Se describen dos tipos: congénita y del desarrollo. La anatomía patológica de las dos es la misma. Las manifestaciones son las mismas que las de la miopía simple, excepto que en las alteraciones degenerativas graves la agudeza visual no puede normalizarse con cualquier tipo de lentes o cirugía. Estas alteraciones pueden no tener relación directa con el grado de miopía (1,2).

El diagnóstico depende del examen oftalmoscópico, las principales características que se encuentran en los enfermos de miopía degenerativa son las siguientes:

- A. Alteración de la papila óptica: se observa un creciente temporal en el sitio donde la coroides se separa del borde de la papila, poniendo al descubierto la esclerótica blanca. Por tanto fuera de esta zona puede haber un segundo creciente corioideo con pigmentación alterada. En la supertracción nasal de los vasos sobre la papila, el tejido retiniano parece contraerse hacia el borde nasal de la papila, distorsionando el curso de los vasos (1,2).
- B. Alteración en las coroides y en la retina: la coroides aparece estriada y adelgazada, con zonas atróficas y de alteración pigmentaria. Estos desórdenes pueden producir parches blancos descubiertos de esclerótica que se ven a través ó grumos de pigmento que semejan las alteraciones de la coriorretinitis. Rara vez puede haber proliferación de una cantidad poco común de pigmento en la región de la mácula para formar la mancha negra de Foster-fuchs (1,2).
- C. Modificaciones anormales en la esclerótica: adelgazamiento en la esclerótica formando un estafiloma. El sitio mas frecuente es el polo posterior del ojo. El estafiloma aumenta la longitud axial del ojo y de este modo hace esa zona mas miope que la retina circunvecina (1,2).
- D. Variaciones en el humor vítreo: son frecuentes la degeneración fibrilar y el desprendimiento posterior del vítreo (1,2).

La miopía de alto grado es también llamada miopía degenerativa, tiene un desarrollo crónico y está asociada frecuentemente a daño de la retina, degeneración corio-retiniana, cataratas tempranas y glaucoma. Es importante denotar que las formas de miopía se presentan de manera más frecuente con valores menores o iguales a -5 dioptrías. También es relevante indicar que sin importar el método de manejo, los pacientes no logran una agudeza visual de 20/20, esto es debido a que las estructuras del polo posterior del ojo se encuentran deterioradas y por lo tanto no es posible dar un adecuado manejo de este tipo de daños. Esta afección ocular se considera también una ametropía patológica (anomalía refractiva) cuando en el transcurso del año aumenta más de una dioptría en su valor (1,2).

Se ha establecido que hay una alta correlación entre la aparición de miopía y la consanguinidad. Investigaciones previas indican que hay un alto grado de heredabilidad del 84% al 94% en los errores de refracción como la miopía y la hiperopía. Estos resultados han sido obtenidos entre familiares cercanos, pues aunque hay una pequeña correlación entre familiares lejanos aún no se ha establecido un gen relacionado con este tipo de defectos refractivos (2).

A pesar que se ha demostrado la relación entre alteraciones cromosomales y defectos refractivos como la miopía, es importante dejar claro que factores de diferente índole también han sido fuertemente asociados a este tipo de defectos degenerativos, encontrándose dentro de estos la edad, el sexo, el estudio y el trabajo. Con respecto a lo anterior es necesario aceptar dentro de la predisposición familiar, los factores ambientales y reconocer que las investigaciones realizadas acerca de la predisposición genética de la miopía de alto grado no tienen en cuenta los factores ambientales dentro de sus consideraciones, por lo que resulta complicado en ocasiones complementar estos dos aspectos (2).

Anteriores reportes indican que la correlación de miopía entre padres e hijos es muy alta llegando a mostrar resultados del 94%, sin embargo en estos estudios no se tomo en cuenta la edad, el sexo y los años de educación. Se ha observado que este defecto refractivo no tiene una distribución simple y depende tanto de factores ambientales como de factores genéticos (2).

La miopía es un problema que afecta en promedio un 30% de la población en todo el mundo, se asocia con desprendimiento de retina y degeneración

macular, aparte de esto también es la cuarta causa mas común de ceguera. Hay estudios que plantean la importancia de encontrar los marcadores genéticos de la miopía pues esto permitiría dilucidar la fisiopatología de la misma. Los cambios típicos de la miopía degenerativa son aumento del tamaño de la cabeza del nervio óptico y fondo de ojo atigrado debido a que la retina se adelgaza y permite observar la vascularización de la coroides que se encuentra envolviendo la retina (3).

La miopía degenerativa se encuentra en un 2-3% de la población mundial, puede ser heredada de forma autosómica dominante, recesiva o ligada al cromosoma X. Dentro de los *loci* encontrados, se destacan los que son de carácter autosómico dominante: 18p11.31, 12q21-q23, 7q36, y 17q21-q22. Otro de los *loci* de relevancia es el que se encuentra ligado al cromosoma X (Xq28) (3,4).

Hasta el momento se han descrito 8 *loci* relacionados con la miopía degenerativa. El primero MYP1 fue descrito en el cromosoma Xq28 y fue reportado en 1990 en un estudio realizado por Bornholm. El segundo locus MYP2 en el cromosoma 18p11.31 realizado por Genaro S. Scavello, el tercer locus MYP3 fue identificado en el cromosoma 12q21-q23 y el MYP5 (quinto locus) en el cromosoma 17q21-q22. El cuarto locus MYP4 fue identificado en Francia en el cromosoma 7q36. El sexto locus y uno de los últimos en ser reportado, fue descrito por Zhang en china y fue nombrado como MYP11 ubicado en el cromosoma 4q22-q27, además de este se encuentra el MYP13 ubicado en el cromosoma Xq23-q25. El último de los locus relacionados con la miopía degenerativa es el MYP12 ubicado en el cromosoma 2q37.1. A pesar de que estos son los locus mas relacionados con la miopía degenerativa, hay algunos otros sugeridos para la miopía común, como el MYP6 en el cromosoma 22q12, el MYP7 en el cromosoma 11p3, el MYP8 en el cromosoma 3q26, el MYP9 en el cromosoma 4q12, el MYP10 en el cromosoma 8q23, el MYP14 en el cromosoma 1p36 (2,5).

En un estudio donde se utilizaron siete familias que habían sido diagnosticadas con miopía degenerativa autosómica dominante se definió un intervalo genómico de 2.2 cM (centiMorgans), en la banda del cromosoma 18p11.31, el cual se designó como el locus MYP2. Para secuenciar esta región se utilizaron nueve candidatos de genes conocidos ubicados entre el intervalo de 2.2 cM por medio de secuenciación directa. En total se encontraron 103 polimorfismos

por secuenciación directa. Los análisis de las mutaciones de los 9 genes candidatos no identificaron secuencias de las alteraciones relacionadas con el fenotipo de la enfermedad (5).

En una larga familia alemana/italiana sin antecedentes de glaucoma o de anomalías en el tejido conectivo se encontró el segundo locus reportado para la miopía 12q21-23 (MYP 3). El promedio del diagnóstico de la miopía fue a los 6 años de edad y el promedio de error de refracción fue de -9.47 dioptrías. Algunos eventos recombinantes lograron identificar marcadores como el D12S1706 y el D12S327 que definen un intervalo 30.1- cM en el cromosoma 12q21-23. Por lo tanto, se hace necesario el estudio de nuevas familias que conduzcan a la identificación de genes involucrados en esta patología y de esta manera encontrar mecanismos moleculares que permitan controlar el crecimiento del ojo y por consiguiente de esta afección que resulta cada día más común (7,8).

En un estudio realizado en Taiwan con familias que presentaban miopía degenerativa (alta miopía), se encontraron mutaciones en la codificación de proteínas como el «biglycan» (Xq27ter), el «decorin» (12q21-q22) y el «lumican» (12q21.3-q22). Estas transformaciones en los componentes de la matriz extracelular están involucradas en algunas formas de miopía debido a que durante el desarrollo de la misma se afecta la formación de las fibrillas de colágeno en la esclera (9).

En un estudio multigeneracional realizado con una familia con 33 miembros se encontró que 14 de ellos resultaban afectados por una miopía degenerativa con un error refractivo esférico, en un rango de -7,25 a -27, proporcionó la evidencia para la identificación de un locus autosómico dominante en el brazo largo del cromosoma 2 relacionado con la miopía degenerativa. Estos hallazgos proveen bases para sustentar la teoría de la heterogenicidad genética de la miopía degenerativa. El estudio de los genes involucrados en este locus ayudaría a dilucidar los mecanismos moleculares por los cuales se presenta este desorden y a evidenciar la regulación del crecimiento ocular (10).

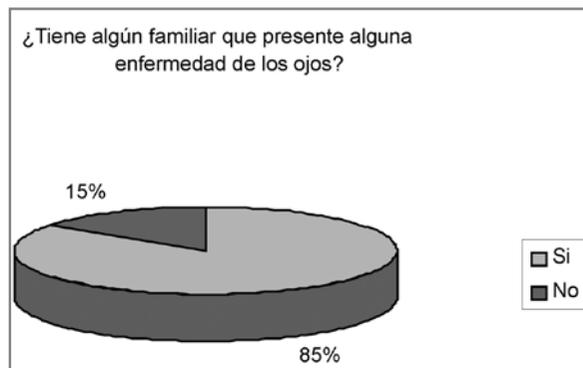
## MATERIALES Y MÉTODOS

Se hizo una investigación retrospectiva basada en las historias clínicas de los pacientes que han consultado al Instituto Ocular Opsall en Soacha diagnosticados con miopía degenerativa entre el 2004 y el 2006. De esta población se escogió de manera aleatoria

una muestra de 20 pacientes en los que el grado de miopía se encuentra entre -5 y -30 dioptrías, a los cuales se les realizó una encuesta con el fin de indagar antecedentes familiares y personales que permitieran comprobar si existe una relación entre la miopía degenerativa y los factores hereditarios.

## RESULTADOS

Del total de pacientes estudiados, el 85% afirmó tener algún familiar con problemas oculares (Gráfica 1). Del total de los pacientes con familiar(es) que presentan problemas oculares, el 5.9% tenía como único familiar afectado al padre, el 11.8% a la madre, el 0% al abuelo(a), el 11.8% al hijo, el 11.8% al hermano, el 5.9% a familiares diferentes a los nombrados y el 52.9% presenta mas de un familiar afectado. (Diagrama 1).



GRÁFICA 1. Personas que tienen algún familiar que sufre una enfermedad ocular.

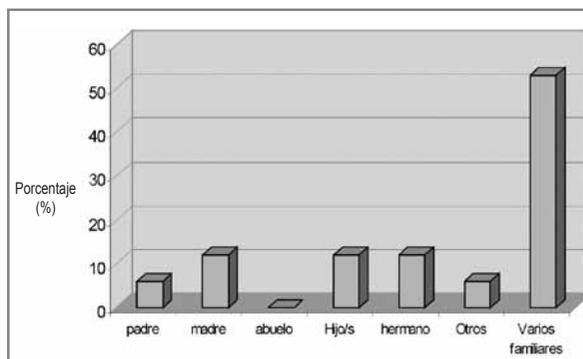


DIAGRAMA 1. Parentesco del Familiar Afectado.

Dentro del total de pacientes que afirmaron tener varios familiares con problemas oculares, el 44.4% involucró al padre, el 55.5% a la madre, el 22.2% al

abuelo(a), el 55.5% a hijo(s), el 44.4% a hermano(s) y el faltante 22.2% correspondió a otros familiares. (Diagrama 2).

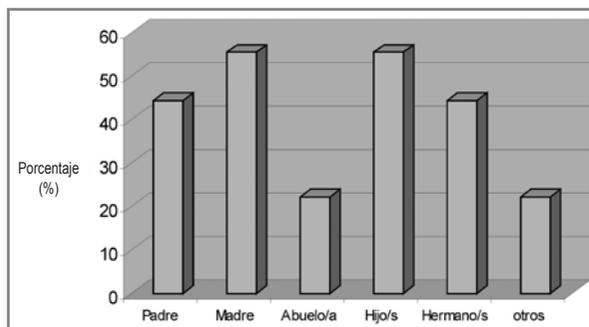
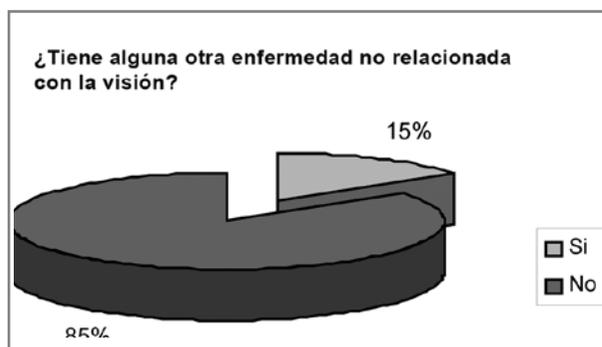


DIAGRAMA 2. Dentro de los pacientes que contestaron que varios familiares presentan una enfermedad ocular.

Del total de los pacientes estudiados, el 15% admitió presentar alguna enfermedad no relacionada con la visión; mientras que el restante 85% negó padecer otra enfermedad (Gráfica 2).



GRÁFICA 2. Relación de la miopía con alguna enfermedad concomitante.

## DISCUSIÓN

Debido a que la mayoría de los pacientes no presentaban enfermedades asociadas y tenían uno o varios familiares con alguna patología ocular, se logró comprobar la hipótesis, es decir que si existe una relación entre la aparición de miopía degenerativa y factores hereditarios aún no identificados en esta población. Sin embargo, el estudio realizado no alcanza a definir

un patrón general para la población del municipio debido a que la muestra no es suficientemente representativa, por consiguiente para poder llegar a una afirmación concluyente es necesario hacer un estudio multigeneracional, que se convierte en un nuevo propósito para el futuro.

## REFERENCIAS

1. Vaughan D Y Taylor A, Oftalmología General, 12ª edición, 2000, editorial El Manual Moderno, p. 306-309.
2. Alison P. Klein, P. Duggal, Kristine E. Lee, Ronald Klein, Joan E. Bailey-wilson, And Barbara E. K. Klein, Support for Polygenic Influences on Ocular Refractive Error. Polygenic Influences on Ocular Refractive Error, IOVS, February 2005, Vol. 46, 442-446.
3. Qingjiong Hang,xiangming Guo, Xueshan Xiao, Xiaoyun Jia, Shiqiang Li, J. Fielding Hejtmancik A new locus for autosomal dominant high myopia maps to 4q22-q27 between D4S1578 and D4S1612, *Molecular Vision* 2005; 11:554-60.
4. Seang-mei Saw, Joanne Katz, Oliver D. Schein, Sek-jin Chew, Tat-keong Chan, Epidemiology of Myopia, *Epidemiologic Reviews*, Vol. 18, No. 2, 175-184.
5. G. S. Scavello, Jr., Prasuna C. Paluru, J. Zhou, P. S. White, E. F. Rappaport, T. L. Young, Genomic structure and organization of the high grade Myopia-2 locus (MYP2) critical region: mutation screening of 9 positional candidate genes *Molecular Vision* 2005; 11:97-110.
6. Dwight Stambolian, Grace Ibay, Lauren Reider, Debra Dana, Chris Moy, Melissa Schlifka,taura Holmes, Elise Ciner, And Joan E. Bailey-wilson. Genomewide Linkage Scan for Myopia Susceptibility Loci among Ashkenazi Jewish Families Shows Evidence of Linkage on Chromosome 22q12, *The American Society of Human Genetics*, 75:448-459, 2004.
7. Young,terri L; Ronan, Shawn M; Alvear,alison B;wildenberg, Scott C;setting,william; Atwood, Larry D; Wilkin, Douglas J. & King, Richard A. A Second Locus for Familial High Myopia Maps to Chromosome 12q. *The American Society of Human Genetics*. 1998. Páginas 1419- 1424.
8. Paluru,prasuna; Ronan, Shawn M;heon, Elise; Devoto, Marcella;wildenberg, Scott C; Scavello, Genaro; Holleschau, Ann; Cole, William G; King, Richard &young, Terri L. New Locus for Autosomal Dominant High Myopia Maps to the Long Arm of Chromosome 17. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, May 2003, Vol. 44, No. 5.
9. Wang, J; Chiang, T; Shih, Y; Hsiao, C; Lu, S; Hou, Y; Lin, L. The association of single nucleotide polymorphisms in the 5'-regulatory region of the *lumican* gene with susceptibility to high myopia in Taiwan. *Molecular Vision* 2006. 4 de agosto del 2006.
10. Prasuna C. Paluru, Sudha Nallasamy, Marcella Devoto, Eric F. Rappaport, And Terri L. Young, Identification of a Novel Locus on 2q for Autosomal Dominant High-Grade Miopia, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, July 2005, Vol. 46, No. 7.

## INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INFLUENZA AVIAR A EN HUMANOS

CARLOS EDUAR PÉREZ DÍAZ<sup>1</sup>, LUIS EDUARDO PINO VILLAREAL<sup>2</sup>, MARÍA CAMILA PINZÓN SEGURA<sup>3</sup>

### RESUMEN

Hasta hace poco tiempo se creía que los virus de Influenza tipo A (A debido a Aves, sus hospederos naturales) dadas sus características de limitada replicación no podían causar enfermedad en humanos, a pesar de haberse demostrado su transmisión a cerdos, caballos e inclusive mamíferos marinos (1). Actualmente no hay duda que esta barrera ha sido superada y que el advenimiento de la pandemia actual ocasionada por el serotipo H5N1 ha revalidado este concepto y amerita una revisión del tema con el fin de que los médicos que estamos destinados a enfrentarla tengamos el conocimiento necesario sobre este tipo de virus y así dar el primer paso para vencer el miedo a manejarlo.

**Palabras clave:** virus Influenza A, hemaglutinina, neuraminidasa, deriva antigénica, cambio antigénico, genotipo Z, Oseltamivir, Zanamivir, adamantinas.

### ABSTRACT

Until a few years before we believe avian influenza A viruses (A means avian, its natural host) could not cause disease in humans because its limited replication, nowadays we know this is possible and we are facing a threat caused by the pandemic generated by H5N1 serotype with high morbidity and mortality in Asia and Europe. We describe immunogenetic characteristics of the avian influenza A viruses, the hypotheses that could explain its evolution and the current recommendations for treatment and prevention in an effort to diminish fears and with the hope to face this pandemic since a new point of view.

**Key words:** influenza A virus, Avian influenza A, H5N1, orthomyxovirus, neuraminidase, hemagglutinin.

### VIROLOGÍA

Los virus Influenza pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae* designada así debido a su tropismo por la mucina. Son virus ARN de cadena simple con 8 segmentos que codifican 11 proteínas, entre estas se encuentran las polimerasas (PB1, PB2, PA, PB1-F2), proteína de la nucleocápside (NP), hemaglutinina, neuraminidasa, proteínas de la matriz (M1, M2) y proteínas no estructurales (NS1, NS2). Se clasifican en tipos A, B y C dependiendo de las diferencias

antigénicas en su nucleoproteína (NP) y proteínas de la matriz (MP1). Las subclasificaciones posteriores se derivan de las diferencias antigénicas en sus dos glicoproteínas de superficie: Hemaglutinina y Neuraminidasa. En los virus Influenza A se han aislado 16 serotipos por Hemaglutinina (HA) y 9 serotipos por Neuraminidasa (NA). En humanos las cepas circulantes se habían restringido a tres serotipos por HA y dos por NA. El sistema de nomenclatura utilizado para designar las cepas virales consta de clasificación/ huésped de origen/ lugar geográfico

<sup>1</sup> Médico Infectólogo, Jefe Servicio de Infectología Hospital Militar Central. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>2</sup> Médico Residente III año Medicina Interna, Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>3</sup> Estudiante IX Semestre Facultad de Medicina Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.  
Dirección electrónica para correspondencia: docpino2@cablenet.co

de origen/ número de la cepa/ año de aislamiento/ descripción antigénica, así por ejemplo tenemos: A/ pollo/ Pennsylvania/ 1370/ 83/ (H5N2).

La HA media la unión y entrada del virus a las células objetivo fijándose a los receptores de ácido siálico (NANA) en la superficie y también es la proteína que genera inmunidad protectora por inducción de anticuerpos neutralizantes. Esta fijación de la HA a los residuos de NANA es específica de huésped y es la que explica la barrera inter-especies. Es así como los virus humanos se fijan a los residuos de NANA unidos a una galactosa por enlaces  $\alpha$  2-6 que se encuentran en las células epiteliales respiratorias, mientras los virus aviares se unen a residuos de NANA unidos a galactosa mediante enlaces  $\alpha$  2-3 que se encuentran principalmente en células del epitelio intestinal. El cerdo por su parte tiene enlaces tanto  $\alpha$  2-3 como  $\alpha$  2-6 en su epitelio traqueal y por tanto es el candidato ideal a ser la vía común de recombinación viral que dio lugar a la cepa recombinante que trascendió la barrera interespecies afectando al ser humano a partir de virus aviares. Las aves de corral tienen también expresión en su intestino de los dos tipos de enlace por lo cual se han visto implicados también en estos mecanismos de reorganización genética. El cambio de un solo aminoácido en la proteína H5 es suficiente para cambiar la especificidad de receptor y sobrepasar la barrera interespecies (2,5). Hay algunas cepas virales que se han adaptado lo suficientemente al virus en cerdos que no requieren del contacto con un virus influenza humano para lograr cambiar la especificidad de receptor y volverse infectantes en humanos (1).

La NA facilita la diseminación de viriones en el hospedero al clivar la unión de las glicoproteínas de superficie a los residuos de ácido siálico permitiendo la liberación del virión. Este paso es bloqueado por medicamentos como oseltamivir y zanamivir disminuyendo la liberación de las partículas virales desde la célula infectada, sin embargo ya hay reportes de mutaciones puntuales que confieren resistencia a estos medicamentos.

La proteína M2 por su parte es un canal iónico crucial para la disociación pH dependiente de las proteínas de la matriz desde la nucleocapside durante la pérdida de la cubierta a nivel intracelular. Es a este nivel en donde actúan la amantadina y rimantadina, sin embargo, el virus H5N1 tiene resistencia natural a estos medicamentos.

Otras proteínas tienen también funciones importantes: La PB1-F2 ocasiona apoptosis en la célula huésped, la PB2 en conjunto con la HA son antigénicas.

Quizás la característica virológica más importante de este virus es su facilidad para realizar dos fenómenos inmunogenéticos: la deriva y el cambio antigénico. La deriva antigénica se refiere a cambios relativamente menores en la antigenicidad de la HA o de la NA debido a mutaciones. Este fenómeno ocurre continuamente debido a cambios ambientales que originan presión de selección natural y es lo que explica la necesidad de desarrollar una vacuna anual diferente de acuerdo al serotipo circulante mutado. El cambio antigénico por su parte es un fenómeno de reorganización genética en sus 8 segmentos de ARN lineal que genera la aparición de una nueva cepa con características diferentes que puede dar origen a pandemias como es el caso de la actual. En estos casos la patogenicidad es muy alta debido al contacto de un nuevo serotipo con un huésped inmunológicamente virgen.

El genotipo viral circulante ha sido denominado genotipo Z y se ha dividido en tres clones: el clon 1 está circunscrito a Camboya, Laos, Malasia, Tailandia y Vietnam; el clon 2 se ubica en China, Indonesia, Japón y Corea del Sur y el clon 3 en Vietnam del Norte y Tailandia.

## MECANISMOS DE VIRULENCIA

Los factores de virulencia moleculares del virus H5N1 son:

- Hemaglutinina altamente inestable de fácil activación.
- Mutación en la proteína PB2 que incrementa su capacidad replicativa in vivo.
- Sustitución de aminoácidos en la proteína no estructural 1 (NSP-1) que le confiere resistencia a la inhibición por factor de necrosis tumoral alfa e interferones.
- Incremento en la expresión de factor de necrosis tumoral alfa en macrófagos.

Con respecto a otros virus Influenza, especialmente frente al H5N1 detectado en 1997 y por su comportamiento actual puede entreverse que este serotipo:

- Tiene replicación en tracto gastrointestinal debido a mayor detección de ARN viral en heces de enfermos.
- Tiene tropismo visceral debido a su secuencia aminoácido polifásica en el sitio de la hemaglutinina altamente inestable.
- Aún existe algún grado de efectividad en la barrera interespecies debido al gran número de aves infectadas respecto al bajo número de humanos afectados.
- Las respuestas inmunes innatas del huésped contribuyen al pronóstico y patogenia ya que los pacientes con mayores niveles de interleukina 6 y 8, interleukina 1B y proteína 1 quimioatrayente de monocitos tienen mayor mortalidad (2), al parecer por un desarrollo más temprano de síndrome de dificultad respiratoria aguda, sepsis y disfunción multiorgánica.
- En los sobrevivientes la respuesta humoral se desarrolla 10 a 14 días después del inicio de la enfermedad.

## ANTECEDENTES HISTÓRICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS

Se han descrito pandemias de virus Influenza desde el año 1580 cuando se diseminó de Europa a Asia y África, quizás la pandemia más recordada por la humanidad fue la denominada “Gripe española” en el año 1919, constituyéndose en una de las más devastadoras de la historia con un número de 20 a 40 millones de muertes en el mundo, esta al parecer se originó en Estados Unidos y fue transportada por las tropas norteamericanas a Europa (3), ocasionada por un virus influenza A serotipo H1N1 de origen aviar que sufrió un mecanismo de deriva antigénica teniendo como intermediario al cerdo, situación similar a la pandemia de la actualidad. Posteriormente vinieron otras epidemias como el “Influenza Asiático” en 1957, ocasionado por un virus H2N2 con un mecanismo de recombinación viral aviar – humanos; la epidemia de Influenza en Hong Kong en 1968 por el serotipo H3N2; la epidemia de “Influenza Rusa” en 1977 por los serotipos H2N2 – H3N2, estas dos últimas también por mecanismo de recombinación viral y la epidemia de Hong Kong en 1997 por el serotipo H5N1 de origen 100% aviar, con el cual existen diferencias respecto al serotipo H5N1 actual las cuales se describirán posteriormente. Entre el 26 de diciembre de 2003 y agosto de 2005 se habían reportado a la OMS 112 casos de influenza aviar con un total de 57 muertes,

actualmente los casos han trascendido a Europa y Africa con más de 13 países afectados (4).

## MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

El virus se transmite por inhalación de gotitas de flougge, contacto directo y quizás por contacto indirecto (fómites) con autoinoculación hacia el tracto respiratorio alto y la conjuntiva. No se ha definido muy bien la eficacia de las vías de transmisión, hay fuertes indicios que respaldan la transmisión ave-humano y menores evidencias respecto a la transmisión ambiente –humano y mucho menor aún respecto a la transmisión humano– humano (5).

### Transmisión Animal-Humano

En los casos reportados en 1997 en Hong Kong hubo evidencia de contacto con aves de corral vivos hasta una semana previa al inicio de la enfermedad. No se ha documentado riesgo relacionado con la ingesta de aves enfermas o sus productos derivados o exposición a otras personas infectadas. En los casos más recientes se ha registrado historia de contacto directo con las aves y también con la manipulación y preparación de aves infectadas, consumo de sangre y productos mal preparados especialmente de patos. Los felinos se han visto afectados por el consumo de aves infectadas, de hecho en Alemania se reportaron casos de gatos muertos por la enfermedad en los últimos meses.

### Transmisión Humano-Humano

Este mecanismo ha sido sugerido en brotes de contactos y en un caso de posible transmisión madre-hijo en Vietnam (5). Hasta el momento no se ha confirmado este mecanismo de transmisión sin embargo no hay estudios serológicos que indiquen una adaptación de las cepas locales a los humanos de tal forma que se facilite esta vía. Otro hecho notorio son las bajas tasas de infección en el personal de salud que ha atendido afectados por la enfermedad, aún sin utilización de medidas preventivas.

### Transmisión Medio Ambiente-Humano

Debido a la supervivencia viral en el medio ambiente, otros factores de riesgo son: ingesta oral de aguas contaminadas durante actividades como natación, inoculación intranasal directa o conjuntival, contaminación de manos a partir de fómites y autoinoculación.

## CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

El espectro de infección de la Influenza aviar va desde infecciones leves hasta cursos subclínicos, incluyendo presentaciones “atípicas” como encefalitis y gastroenteritis e infecciones severas (1,2). La mayoría de casos se han producido en pacientes previamente sanos.

El período de incubación es más largo que para otros virus Influenza con un rango de 4 a 8 días. En los casos de brotes entre contactos el intervalo caso-caso ha ido desde 2 a 5 días extendiéndose inclusive hasta 17 días (5).

Inicialmente la enfermedad cursa con temperaturas cercanas a 38 °C y síntomas gripales pero con predominio de síntomas respiratorios bajos. A diferencia de otros casos de Influenza aviar este no cursa frecuentemente con conjuntivitis. Algunos pacientes han reportado como síntomas iniciales diarrea, vómito, dolor abdominal, dolor pleurítico y epistaxis. El prodromo diarreico parece ser más frecuente en este virus.

Posteriormente estos síntomas se incrementan llegando a predominar el compromiso del tracto respiratorio inferior, en ocasiones con hemoptisis y hallazgos sugestivos de neumonía, con cambios radiológicos variables que se hacen notorios hacia el día 7º de enfermedad, entre estos se destacan:

- Infiltrados alveolares difusos.
- Infiltrado intersticial multifocal.
- Consolidaciones segmentarias lobares con broncograma aéreo.
- No es frecuente el derrame pleural.

Los estudios microbiológicos generalmente son negativos y no es frecuente la sobreinfección bacteriana. El desarrollo de síndrome de dificultad respiratoria aguda se da especialmente después del 5º día de enfermedad (promedio de 4 a 13 días) y posteriormente se desarrolla compromiso multiorgánico con falla secuencial de órganos que es lo que lleva al paciente a la muerte. Pueden presentarse un sin número de complicaciones asociadas, entre ellas:

- Neumonía asociada a ventilador.
- Hemorragia alveolar.
- Pancitopenia.
- Síndrome de Reye.
- Sepsis sin bacteremia evidente.

La mortalidad es mayor en niños a diferencia de la pandemia de Hong Kong en 1997 cuando fallecieron principalmente pacientes mayores. En menores de 15 años la mortalidad es del 90%. La muerte ocurre en promedio hacia el día 10º debido a falla respiratoria refractaria y disfunción multiorgánica.

## HALLAZGOS DE LABORATORIO

Son inespecíficos, puede encontrarse leucopenia con linfopenia y trombocitopenia, elevación leve de transaminasas e hiperglicemia que algunos han atribuido al uso concomitante de esteroides y elevación de azoados en relación prerrenal con posterior desarrollo de necrosis tubular aguda.

## DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO

Los virus se encuentran en mayor cantidad en muestras faríngeas que en muestras nasales contrario a lo que ocurre con otros virus Influenza. El diagnóstico puede hacerse mediante aislamiento viral en cultivo el cual es dispendioso o mediante la detección de RNA específico H5. Los test de detección antigénica rápida son de baja sensibilidad.

El diagnóstico definitivo se hace por aislamiento en cultivo o por elevación de al menos cuatro veces en los títulos de anticuerpos neutralizantes contra H5N1, método disponible solo en laboratorios de referencia con nivel 3 de bioseguridad. Este test de neutralización de anticuerpos debe sin embargo confirmarse mediante técnicas de recombinación para H5 con baculovirus lo cual es aún de menor disponibilidad.

Las técnicas rápidas de detección antigénica pueden hacerse por inmunofluorescencia indirecta (IFI), inmunoensayo enzimático o métodos inmunocromatográficos. Infortunadamente la sensibilidad de los kits comerciales utilizados es muy variable (33,3 a 87%) (5), lo cual hace necesario realizar confirmación por métodos directos para aquellos pacientes que den positivo a estas pruebas.

Las técnicas de PCR viral específica aunque de buen rendimiento no están estandarizadas y también deben confirmarse mediante estudios virológicos directos (2).

## DETECCIÓN DE CASOS

Se define como “Caso Sospechoso” de la enfermedad todo **paciente con enfermedad respiratoria severa proveniente de países de riesgo y con antecedentes de contacto con aves de corral o pacientes con enfermedad respiratoria severa inexplicable o presentaciones atípicas (encefalopatía-diarrea) en áreas de actividad conocida de influenza A en humanos y/o animales** (1,5).

A los pacientes que entren dentro de esta definición debe realizárseles muestreo nasal y faríngeo con pruebas antigénicas rápidas y detección de ARN viral (PCR). Si al menos una de estas dos pruebas es positiva debe realizarse un examen viral confirmatorio en laboratorios de referencia ya sea mediante cultivo viral o titulación de anticuerpos neutralizantes.

Al mismo tiempo debe iniciarse manejo indicado, especialmente medidas de soporte ventilatorio si es necesario y terapia preferiblemente en unidad de cuidado intensivo, manteniendo medidas universales de bioseguridad a pesar de la demostrada baja o nula transmisibilidad humano-humano.

## TRATAMIENTO

Los medicamentos antivirales disponibles son las Adamantinas (Amantadina-Rimantadina) y los inhibidores de neuraminidasa (Oseltamivir-Zanamivir). Las adamantinas no se consideran de utilidad en la pandemia actual debido a la rápida adquisición de resistencia y a la fácil diseminación de estos viriones resistentes en los pacientes que han recibido tratamiento con estos medicamentos. Además hay un alto número de aislamientos virales especialmente en el Clon 1 con mutaciones en el gen de la proteína M2 que confiere resistencia intrínseca a estos medicamentos. Su utilidad radica en la profilaxis dentro de comunidades aun con cepas sensibles confirmadas a su acción.

Por su parte los inhibidores de neuraminidasa tienen un papel mayor en la profilaxis y prevención de la enfermedad, aunque sin evidencia in vivo debido a la emergencia de esta pandemia. Los dos inhibidores de neuraminidasa han probado efectividad en mejorar la supervivencia y evitar la mortalidad de estos pacientes y su mayor utilidad se ha visto cuando se inician en

las primeras 48 horas del inicio de la sintomatología. Las cepas actuales tienen buena sensibilidad a estos medicamentos, sin embargo, se han descrito aislamientos virales de baja susceptibilidad a Oseltamivir en Vietnam (2), que respondió a dosis mayores del mismo.

El incremento en el uso del Oseltamivir a medida que surgen nuevos casos hace temer por el resurgimiento de cepas resistentes al mismo y por tanto se hacen esfuerzos por encontrar esquemas alternativos como la combinación con una adamantina en los lugares en que aún haya sensibilidad reportada a estos medicamentos, combinación de Oseltamivir con Probenecid para mejorar la biodisponibilidad o la combinación de Oseltamivir y Zanamivir o de un inhibidor de neuraminidasa con Ribavirina, sin embargo debido a la emergencia de la situación no se ha podido probar la efectividad de estos regímenes (6).

Se recomiendan dosis mayores de inhibidores de neuraminidasa en pacientes con mayores cargas virales debido a presentaciones de mayor evolución, presentaciones severas con shock o pacientes con baja biodisponibilidad oral debido a diarrea y vómito. Se ha preferido Oseltamivir debido a su presentación oral sobre el Zanamivir cuya vía de administración es inhalatoria ya que la absorción de este último puede ser errática en pacientes con ventilación mecánica.

Las dosis actuales recomendadas son: Oseltamivir en adultos: 75mg c/12h por 5 días; en niños mayores de 1 año c/12h por 5 días según peso así: 15 kg= 30mg, 16-23Kg= 45mg, 24-40Kg = 60mg, >40Kg= 75mg. No debe administrarse en niños menores de 1 año, fetos, mujeres embarazadas ni mujeres en lactancia por su alta capacidad de concentración en el SNC en desarrollo (6).

Respecto a los esteroides e inmunoglobulina humana intravenosa no hay evidencia que permita recomendar su utilización ni siquiera en los casos más graves de la enfermedad. Algunos autores recomiendan terapia antibiótica empírica con betalactámicos y macrólidos aunque tampoco hay evidencia que sustente su utilidad (5).

Hay algunos grupos, en especial europeos, que se encuentran trabajando en vacunas con antígenos del virus unidos a virus mutantes como adenovirus con porcentajes aceptables de inmunogenicidad.

## MEDIDAS DE PREVENCIÓN EN HUMANOS

### Precauciones de aislamiento en cuidados sanitarios

- Aislamiento respiratorio del paciente
- Careta de alta eficacia (N-95), vestidos de manga larga con guantes, protección facial o lentes protectores para los trabajadores de la salud.
- Limitar el número de trabajadores de salud a cargo del paciente infectado, en lo posible que sea un manejo exclusivo del paciente, no ver a otros pacientes.
- Limitar el contacto del paciente con el medio ambiente.
- Restringir al máximo las visitas.

### Precauciones en Trabajadores de la salud

- Deben cuantificar la temperatura dos veces al día y reportar cualquier evento febril. Si ocurriera tal evento sin relación con contacto directo del paciente deben ser sometidos a prueba diagnóstica. Si hay fiebre en relación directa al contacto iniciar tratamiento con Oseltamivir.
- Si se reporta contacto con secreciones, aerosoles u otro tipo de fluido o excreción del paciente debe ser considerado para quimoprofilaxis postexposición con Oseltamivir 74mg/día por 7-10 días.
- El personal de salud involucrado en procedimientos de alto riesgo, debe ser considerado para profilaxis preexposición.

### Precauciones domésticas y contactos cercanos

- Apropiaada higiene de manos, no compartir utensilios, evitar contacto cara-cara. Uso de caretas de alta filtración y protección ocular.
- Contactos que han compartido un ambiente definido (ancianatos, hacinamiento, batallones) con persona infectada o sospechosa de infección debe monitorizar su temperatura 2 veces al día y revisar síntomas por 7 días después de la última exposición. Se aconseja profilaxis postexposición.

### Precauciones para viajes

- Viajeros a zonas conocidas por presencia del virus deben ser inmunizados con la vacuna trivalente 2 semanas antes del viaje.

- Los viajeros deben evitar todo contacto directo con aves en apariencia sanas u enfermas, granjas o tiendas de animales vivos, materia fecal o secreciones de los mismos.
- Realizar frecuentemente lavado de manos, especialmente antes del contacto con aves que van a ser cocinadas. No ingerir huevos ni alimentos derivados de aves no cocidos.

Los viajeros deben ser alertados de consultar a centros de salud si se empieza a sentir enfermo con fiebre y síntomas respiratorios dentro de los 10 días posteriores al retorno del área afectada.

La batalla contra la cepa H5N1 de Influenza A apenas ha comenzado, hoy conocemos un poco más sobre sus complejas características inmunogenéticas y comportamiento clínico, sin embargo estamos aún lejos de tener dominio sobre la pandemia y se teme que la escasa disponibilidad de pruebas diagnósticas y medicamentos facilite su diseminación y cobre un número mayor de víctimas en el futuro (7,8). Dependiendo de las instituciones mundiales de salud pública y del personal de salud, la difusión del conocimiento sobre el virus y la aplicación ampliada de políticas de tamizaje y prevención apropiadas. Un esfuerzo que debe empezar en cada uno de nosotros.

## REFERENCIAS

1. Horimoto, T., Yoshihiro, K., Pandemic Threat posed by Avian Influenza A Viruses. Enero 2001., *Clinical Microbiology Reviews*. 14 (1). 129 - 149.
2. Writting Comité of the World Health Organization Consultation on Influenza A/H5, septiembre 2005. *New England Journal Of Medicine*. 353, 1374-1385.
3. Burke, C., Influenza: Historical aspects of epidemics and pandemics. 2004. *Infectious Diseases Clinics of North America*, 18: 141-155.
4. Li, Ks., Guan, Y., Wang J., et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 Influenza virus in Eastern Asia. 2004. *Nature*; 430: 209-213.
5. Samson, S., Kwong-yung, Y., Avian Influenza Virus Infections in Humans. *Chest*, febrero 2006; 129: 156-168.
6. Moscona A., Neuraminidase Inhibitors for Influenza, *New England Journal of Medicine*, septiembre 29, 2005, 353: 1363-73.
7. Trahn Tihn H., et al. Avian Influenza – A challenge to global health care structures. *New England Journal of Medicine*, diciembre 2. 2004, 351: 2363.
8. Monto, A., The threat of an Avian Influenza Pandemic. *New England Journal of Medicine*, enero 25, 2005, 352: 323.

## MÉDULA NEURAL: Origen de la célula madre neural

NÉSTOR OSWALDO RUGE PEÑA<sup>1</sup>

*“En los centros adultos las vías nerviosas son casi fijas, terminadas, inmutables. Todo puede morir, nada puede ser regenerado. Queda para la ciencia futura cambiar, si es posible, este severo decreto”.*

*Santiago Ramón y Cajal, 1928.*

### RESUMEN

Los avances científicos en medicina durante las últimas décadas han permitido desarrollar nuevas y revolucionarias técnicas curativas o terapéuticas, tal es el caso de la regeneración tisular o terapia celular que permite la implantación de células funcionales y compatibles en un tejido u órgano que presenta algún tipo de disfunción celular manifestada a través de una enfermedad. Dicho tratamiento involucra una serie de objetivos como la obtención de células con función específica, aislamiento, cultivo, multiplicación y crecimiento de estas células en cantidad adecuada, modelo de experimentación, protocolo de implante en el tejido blanco e implicaciones éticas correspondientes.

Las células madre adultas tienen capacidad de autorenovación y diferenciación a múltiples tipos celulares, tal es el caso de la célula madre neural que cuestiona el paradigma tradicional que postula “el tejido cerebral no se regenera”. La génesis de nuevas células nerviosas en algunos mamíferos incluyendo el humano es un hecho, con múltiples localizaciones a lo largo del sistema nervioso, unas más estudiadas o discutidas que involucran múltiples factores ambientales, físicos y químicos tanto locales como distales que definen múltiples vías de señalización celular.

**Palabras clave:** célula madre neural, autorenovación, diferenciación, génesis nerviosa, vías de señalización celular.

### ABSTRACT

The medical scientific advances during the last decades have allowed to develop new and revolutionary techniques both curative and therapeutic, such is the case of tissue regeneration or cellular therapy, that allow the implantation of compatible and functional cells either into tissues or organs with any kind of cellular dysfunction manifested as a disease. This treatment involves a set of objectives such as obtaining cells having a specific function, isolation, multiplication and growing of those cells in good quantities, experimental models, implant protocols in the target tissue and the corresponding ethical implications.

The adult stem cells have the ability to self-renew and differentiate into multiple cell lines, like the neural stem cells, these kind of cells question the traditional paradigm that says “the nervous tissue does not regenerate”. The generation of neurons in mammals including humans, is a fact with

---

<sup>1</sup> Estudiante X Semestre, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia.  
Dirección electrónica para correspondencia: nestor\_rugep@yahoo.es

multiple locations throughout the nervous system; some of them more studied and discussed than others that involve multiple environmental, physical and chemical factors acting both locally and at a distance, and that define multiple cellular signalling pathways.

**Key words:** neural stem cell, self-renew, differentiation, nervous genesis, cellular signalling pathways.

## CÉLULA MADRE NEURAL

Las células madre neurales (CMN) adultas son células inmaduras e indiferenciadas del sistema nervioso central (SNC), multipotentes con capacidad de autorenovarse, (1-2-10-12-24-29-30-31) que residen entre células especializadas del tejido nervioso. La multipotencialidad hace referencia a la capacidad de dar origen a los principales tipos celulares especializados del SNC, neuronas, oligodendrocitos y astrocitos, además células ependimales y de Schwann (28) durante todas las etapas de la vida, y el término autorenovación hace referencia a la capacidad de generar una nueva CMN con propiedades idénticas generación tras generación, dando origen a progenitores neurales (neuronal o glial), discutido el microglial (9-15-20), con morfología, localización y marcadores específicos para cada tipo celular e inclusive originar células especializadas de otras capas germinales cuando son sometidas a condiciones específicas in vitro, in vivo, o ex vivo, proceso conocido como plasticidad o transdiferenciación celular y que se opone al concepto tradicional de multipotencialidad para ser, en la actualidad, células pluripotentes (3-16-19-22) (Fig 1). Este concepto de célula multipotencial o pluripotencial esta realmente determinado por el nicho ambiental en que se encuentre inmersa (17-28). Igualmente nuevos conceptos y características de las células madre tales como fusión celular están siendo estudiadas en la actualidad como muestra de sus múltiples capacidades hasta hace un tiempo desconocidas (18-20).

## LOCALIZACIÓN DE LAS CMN

En el cerebro adulto de algunos mamíferos incluyendo el humano, la génesis de nuevas células nerviosas se ha localizado en la segunda y tercera capa de regiones corticales (2-8-11-12), sustancia blanca subcortical (principalmente progenitores gliales), capa germinal externa del cerebelo (12-31), neocorteza (30), capa subgranular del giro dentado del hipocampo (2-3-26-8-11-12-17-24-25-29-30-31), hipotálamo (11),



FIG. 1. Desarrollo embrionario y tipo celular encontrado en cada etapa utilizados en investigación para generar distintos tipos de células adultas especializadas (e).

sustancia nigra (11-30), zona subventricular de los ventrículos laterales (2-3-4-8-11-12-17-24-25-26-29-30-31), amígdala (26-30), astas de Ammon del hipocampo, (30) y capa ependimal de la médula espinal (8-12-30-31) bulbo olfatosio y retina, algunos de estos refutados por otros estudios. La zona subventricular (ZSV) del cerebro adulto es la región mas estudiada y con la mayor tasa de neurogenicidad hasta ahora descrita, esta zona representa un remanente de neuroepitelio germinal embrionario, cuya actividad mitótica persiste a lo largo de la vida (3).

## ZONA SUBVENTRICULAR

Al igual que la medula ósea adulta, la ZSV contiene células madre progenitoras en proliferación, tipos celulares con función de sostén o estroma y un nicho microambiental (16) formado por compartimentos celulares, células especializadas locales, y compartimentos extracelulares tales como membrana basal, matriz extracelular, y una variedad de moléculas que están modulando el gradiente electrolítico y proteico, proliferación, adhesión y migración de sus células contenidas (3-6). Recientemente se ha descrito que los astrositos de la ZSV pueden actuar como elementos del estroma o sostén ya sea por contacto célula-célula y/o produciendo y secretando moléculas, proteínas morfogenéticas, citoquinas y otros factores que afectan el destino glial versus neuronal de la CMN, es decir jugando un rol en su activación y maduración (28), punto clave en que los expertos centran el importante e interesante papel que estos astrositos tienen en la regeneración del tejido nervioso cerebral o espinal dañados por trauma o enfermedad, ya sea modificando los caracteres de los progenitores o formando un ambiente que señale su destino, conclusiones que hasta hace unos años eran desconocidas y hasta impensables ya que en el cerebro en formación las neuronas se comienzan a desarrollar antes que las células gliales. Algo muy importante que llama la atención es la proximidad de la ZSV con el LCR, el amplio espacio intercelular, el reducido contacto célula-célula, moléculas disueltas y características del líquido cefalorraquídeo LCR, que en conjunto contribuyen a hacer de la ZSV un lugar con citoarquitectura y nicho bioquímico único en el SNC si se compara con el ambiente ofrecido por el resto de parénquima cerebral (3). Otra región de creciente interés científico donde nuevas neuronas son generadas, es el giro dentado del hipocampo involucrado en procesos de aprendizaje y memoria, cuya fuente de CMN ha sido más difícil de localizar, algunas investigaciones afirman que la capa subgranular del giro dentado del hipocampo contiene CMN durante el desarrollo hasta el nacimiento, observándose una restricción de progenitores neurales en el cerebro adulto (12). Estos resultados al parecer sugieren que las CMN, y progenitores neurales localizados en el hipocampo provienen de la región periventricular localizada cerca del giro dentado, las cuales migran y se localizan en la zona subgranular. Por otro lado otras investigaciones afirman la existencia del proceso de neurogénesis en el hipocampo después del nacimiento inclusive observado en el cerebro humano adulto

(11-26-30), cuyas evidencias sugieren que ciertos tipos de astrositos en el giro dentado del hipocampo (GDH) pueden dar origen a tipos celulares diferentes a astrositos, de manera similar a la ZSV, pero más estudios son necesarios para confirmar la fuente real de las CMN en el GDH (23) (figura 2).

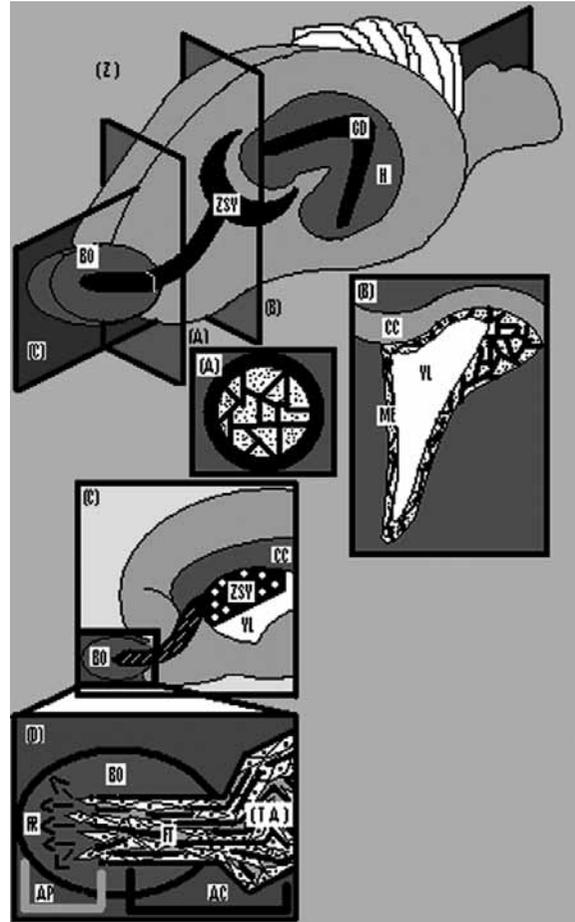


FIG. 2. Representación de un cerebro adulto de mamífero (Modelo murino), donde se muestra las regiones donde ocurre continuamente neurogénesis en el cerebro adulto, Bulbo Olfatorio (BO) e Hipocampo (H) (gris oscuro). Además áreas donde se han encontrado CMNs, Zona Subventricular (ZSV) y Giro dentado (CD). Cortes transversos (A) ZSV en su extensión rostral dentro del cual se encuentra las cadenas de neuroblastos (punteado). (B) ZSV en el ventrículo lateral (VL). Monocapa de células ependimales (ME). Corte Sagital (C) donde se observa las dos partes de la ZSV, la extensión anterior o rostral (lineado) y la extensión posterior o del VL (puntos). (D) Amplificación de extensión rostral de ZSV a su llegada a BO, donde se muestra el tubo astrogial (TA), dentro del cual se encuentran los neuroblastos dispuestos como cadenas de células, presentando un flujo tangencial (FT) y que una vez salen, migran a través de un flujo de características radiales (FR) hacia diferentes capas del BO donde se diferencia a células adultas; AP Área que contine progenitores migratorios donde no se encuentran CMNs; AC Área en la cual son encontradas las CMNs (CC) Cuerpo caloso.

## ORIGEN DE LA CMN

En la ZSV las CMN viajan por una ruta bien establecida a través de un tubo astrogial que lleva a bulbo olfatorio (3-4-21-25-27-30) mediante un flujo migratorio rostral; una vez salen del tubo glial, los nuevos neuroblastos llegan a las capas más superficiales del bulbo olfatorio para terminar diferenciándose en neuronas glomerulares, periglomerulares o interneuronas, lugar del que han sido aisladas y caracterizadas además de observarse su alta capacidad de transformarse en células no neurales (transdiferenciación). Se ha descrito poblaciones de CMN marcadas con análogos de timidina en la ZSV que presentan tasas de proliferación variables con duración de ciclo celulares que oscilan entre 12 horas hasta 28 días, no se tiene muy clara el porque dicha conducta, además se evidenció que alrededor de 30.000 nuevos precursores neuronales (neuroblastos) son producidos diariamente migrando a bulbo olfatorio (3).

El origen real de la CMN es aun desconocido, sin embargo fuentes potenciales de CMN han sido identificadas, los estudios incluyen la glia radial (27-30), astrositos (2-8-12-23), células endodiales (12), e inclusive medula ósea (30). Cuatro principales tipos celulares han sido identificadas en la ZSV (12).

Tipo A que corresponden a precursores neuronales, que migran hacia el bulbo olfatorio.

Tipo B que corresponden a astrositos nestin y proteína ácida fibrilar glial positivas con capacidades similares a la CMN.

Tipo C que corresponden a células multipotentes solo nestin positivas, con propiedades de CMN tanto in vivo como in vitro (12).

Un cuarto tipo celular que corresponde a células endodiales que limitan los ventrículos y médula espinal que pueden tener propiedades similares a las CMN. Además se encuentran células progenitoras de oligodendrocitos identificados por marcadores como gangliósido. GD3, marcador de superficie celular A2B5, antígeno O4, por el anticuerpo monoclonal 14F7, factor de transcripción Olig1, Olig2, Nkx2.2, Dlx2, y el proteoglicano de membrana NG2 que además puede ser expresado por macrófagos y células endoteliales, los marcadores mencionados y su morfología determinan la correcta diferenciación e identificación de la CPOs (12).

Los primeros estudios en roedores mostraron que CMN adultas y progenitoras con receptores para factor de crecimiento básico de fibroblastos, en presencia de este (del inglés TGFb) (3-13-22-24-31) mostraron que previene la diferenciación y maduración de estas células pero interesantemente, promueve su proliferación, demostrándose de esta manera que existe capacidad de autorenovación de estas células en el cerebro adulto, se han reportado otras moléculas involucradas en la proliferación, además procesos de diferenciación y maduración a células adultas. Esto demuestra ser ante todo un proceso de múltiples factores ambientales, físicos y químicos tanto locales como distales que interactúan y definen múltiples rutas de señalización celular (28-30) que llevan a su diferenciación, transdeterminación transdiferenciación, dediferenciación, fusión nuclear, autorregulación o autorenovación terreno en el que se esta investigando, como paso fundamental en el desarrollo de la terapia celular y su potencial, para el tratamiento de múltiples enfermedades.

Se ha observado que durante el desarrollo cerebral o tras una lesión externa al SNC, las CMN proliferan (30) por dos mecanismos (14), por división simétrica donde cada división celular da origen a dos CMN, o por división asimétrica dando origen a una nueva CMN y a un progenitor celular (12). Cuando impera la división asimétrica un gran número de progenitores predominan rápidamente migrando hacia su destino final, mecanismo que impera en los sistemas reparadores del daño neural.

Muchas preguntas quedan por responder sobre las CMN, su comportamiento y múltiples características, cuyos límites hasta ahora se esta empezando a identificar, sus posibles aplicaciones para el tratamiento y por que no curación de algunas enfermedades cuyo sufrimiento no es solo para quien la padece sino además para la familia, la ciencia avanza a gran paso pero falta mucho por investigar, los secretos de la CMN están siendo revelados sutil y cuidadosamente sin generar falsas expectativas, cuya búsqueda seguirá siendo el motor de los avances que depara su esperanzador futuro.

## REFERENCIAS

1. Marcin Majka, Magdalena Kusia, Mariusz Z. Ratajczak. Stem cell biology-a never ending quest for understanding. Acta biochimica polonica. 2005; 52(2): 353-358.

2. Sanai N, Alvares-Buylla A, Berger M. Neural stem cells and the origin of gliomas. *New England Journal of Medicine*. 2005; 353: 811-822.
3. Galli R, Gritti A, Bonfanti L, Vescovi L. *Neural Stem Cell. Circulation Research*. 2003; 598-608. (3)
4. Sheffler B, Walton N, Lin D, Gotees A, Enikopolov G, Roper S. Phenotypic and functional characterization of adult brain neurogenesis. *Neuroscience*. 2005; Vol 102; n° 26: 9353-9358.
5. Goldman S. Stem and progenitor cell-based therapy of the human central nervous system. *Nature*. 2005; Vol 23. n° 17: 862-871.
6. Guan K, Chang H, Rolletschek, Wobus A. Embryonic stem cell-derived neurogenesis. *Cell tissue research*. 2001; 305: 171-176.
7. Vats A, Tolley N, Polak J, Buttery L. Stem cell: Sources and applications. *Clinical Otorolaringol*. 2002; 27: 227-232.
8. Galvin K, Jones G. Adult human neural stem cell for cell replacement therapies in the central nervous system. *MJA*. 2002; 117: 316-318.
9. Simard A, Rivest S. Bone marrow stem cell have the ability to populate the entire central nervous system into fully differentiated parenchymal microglia. *The FASEB Journal*. 2004; 1-9.
10. Kim H, Kim I, Lim S, Lee I. Gene and replacement via neural stem cell. *Yonsei medical journal*. 2004; 45: 32-40.
11. Peterson D. Stem cell therapy for neurological disease and injury. *Panminerva med*. 2004; 46: 75-80.
12. Imitola J, Zinder E, Khoury S. Genetics programs and responses of neural stem/progenitor cell during demyelination: potential insights into repair mechanisms in multiple sclerosis. *Physiol Genomics*. 2003; 14: 171-197.
13. Young H, Black A. *Adult stem cells*, Wiley InterScience. 2004; 276A: 75-102.
14. Molofsky A, Pardoll R, Morrison S. Diverse mechanisms regulated stem cell self-renewal. *Science direct*. 2004; 16: 700-707.
15. Simard A, Rivest S. Bone marrow stem cell have ability to populate the entire central nervous system into fully differentiated parenchymal microglia. *The FASEB Journal*. 2004; 1-9.
16. Gerecht-Nir S, Eldor L, Itskovitz-Eldor J. *Advances in human stem cell research*. 2003; 46: 218-230.
17. Gage F. Mammalian neural stem cell. *Science*. 2000. 287: 1433-1438.
18. Korblyng M, Estrov Z. Adult stem cell for tissue repair: A new therapeutic concept?. *New England Journal of Medicine*. 2003; 349: 570-582.
19. Rosenthal N. Prometheus's vulture and the stem cell promise. *New England Journal of Medicine*. 2003; 349: 267-274.
20. Watt S. Stem cell plasticity. *British Journal of hematology*. 2003; 122: 877-891.
21. Kornack D, Rakic P. The generation, migration and differentiation of olfactory neurons in the adult primate brain. *PNAS*. 2001; 98(8): 4752-4757.
22. Snider B, Olanow W. Stem cell treatment for Parkinson's disease: an update for 2005. *Current Opinion in Neurology*. 2005; 18: 376-385.
23. Song H, Stevens C, Gage F. Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature*. 2002; 417: 39-44.
24. Gritti A, Parati E, Cova L, Frolichsthal P, Galli R, Wanke E, Faravelli L, Morassutti D, Roisen F, Nickel D, Vescovi L. Multipotent stem cell from the adult mouse brain proliferate and self-renew in response to basic fibroblast growth factor. *The journal of neuroscience*. 1996; 16(3): 1091-1100.
25. Uchida N, Buck D, He D, Reitsma M, Masek M, Phan T, Tsukamoto A, Gage F, Weissman I. Direct isolation of human central nervous system stem cell. *PNAS*. 2000; 97 (26): 14720-14725.
26. Eriksson P, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T. neurogenesis in the human hippocampus. *Nature med*. 1998; 4: 1313-1317.
27. Merkle F, Tramontin A, Garcia J, Alvarez A. Radial glia give rise to adult neural stem cell in the subventricular zone. *PNAS*. 2004; 101(50): 17528-17532.
28. Marques Y, Wang M, Liu C. Cellular signaling in neural stem cell: implication for restorative neurosurgery. *Neurosurg focus*. 2005; 19: 1-4.
29. Yue F, Chen B, Wu D, Dong K, Zeng S, Zhang Y. Biological properties of neural progenitor cells isolated from the hippocampus of adult cynomolgus monkeys. *Chin Med J*. 2006; 119(2): 110-116.
30. Taupin F. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system: functionality and potential clinical interest. *Med Sci Monit*. 2005; 11(7): 247-252.
31. Magnus T, Rao M. Neural stem cells in inflammatory CNS diseases: mechanisms and therapy. *J. Cell. Mol. Med*. 2005; 9(2): 303-319.

## AGRADECIMIENTOS A

Dr. Orlando Chaparro, Departamento Fisiología, Universidad Nacional de Colombia.

Dr. Francisco Lopera, Coordinador Grupo Neurociencia de Antioquia, Universidad de Antioquia.

## RECEPTORES TOLL: GENERALIDADES E IMPLICACIONES CLÍNICAS

DIANA C. PORRAS LUENGAS<sup>1</sup>, DIANA PACHÓN<sup>2</sup>

### RESUMEN

El descubrimiento de los Toll-like receptors en los últimos cinco años ha abierto los horizontes en la comprensión de los eventos moleculares que inician la respuesta inflamatoria. Adicionalmente a sus efectos en la activación de células de importancia inmune y el reconocimiento de secuencias de gran variedad de microorganismos potencialmente patógenos, los Toll-like receptors también interactúan con un amplio espectro de ligandos humanos endógenos y de esta forma influencia la actividad y los procesos celulares de varios tejidos. Dentro de los procesos comunes e importantes en los cuales los Toll-like receptors participan se destacan el asma, el síndrome respiratorio agudo, isquemia cardiaca, enfermedades coronarias, necrosis tubular aguda, remodelamiento ventricular, colapso vascular, cistitis, artritis reumatoide, nacimientos prematuros, fertilidad, angiogénesis debida a cáncer y rechazo a transplantes.

En la presente revisión se pretende dar al lector una breve reseña del descubrimiento de los Toll-like receptors, sus generalidades funcionales y químicas y por ultimo brindar una aproximación a las investigaciones actuales que se realizan con ellos mostrando su participación y futura relevancia clínica en varios de los desordenes mencionados anteriormente.

**Palabras clave:** toll-like receptors, *Drosophila melanogaster*, inmunidad innata, defensinas.

Abreviaturas:

TLR	Toll-like receptors
PAMPS	Patrones moleculares asociados al patógeno
TNF	Factor de necrosis tumoral
ELISA	Enzyme Linked Inmunoabsorvent Assay

### ABSTRACT

The discovery of the Toll-like receptors in the last five years has opened new horizons in the comprehension of the molecular events that initiate the inflammatory response. In addition to their effects in the activation of immune cells and the recognition of a variety of sequences found in potentially pathogen microbes, Toll-like receptors also interact with a broad range of human endogenous ligands and this way they influence the cellular processes in many tissues. Examples of important processes in which Toll-like receptors participate include asthma, acute respiratory syndrome, cardiac ischemia, coronary diseases, acute tubular necrosis, ventricular rearrangement, vascular collapse, bladder inflammation, rheumatic arthritis, premature birth, fertility, angiogenesis in cancer and transplant rejection.

---

<sup>1</sup> Estudiante Tercer Semestre. Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>2</sup> Docente, Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.  
Dirección electrónica para correspondencia: dpluengas@gmail.com

The following review gives the reader a brief description of the discovery of Toll-like receptors, their main functional and chemical features. Last of all, the review shows current investigations that demonstrate the participation and future relevance of Toll-like receptors in the clinical disorders mentioned above.

**Key words:** toll-like receptors, drosophila melanogaster, innate immunity, defensins.

#### Abbreviations

TLR Toll-like receptors  
 PAMPS Pathogen associated molecular patterns  
 TNF Tumor necrosis factor  
 ELISA Enzyme Linked Immunoabsorvent Assay

El medio en el cual se desarrolla la vida es muy hostil y ha llevado a que los seres vivos desarrollen estrategias que les permitan crecer y sobrevivir. Dentro de estos mecanismos se destaca el sistema inmune característico de la evolución de los vertebrados, cuyo fin es combatir infecciones causadas por virus, bacterias, protozoos, hongos, gusanos y demás patógenos.

El sistema inmune tiene dos tipos de mecanismos para reconocer y montar la respuesta frente al agente agresor: innatos y adaptativos. Los primeros son de hecho los más primitivos en términos evolutivos, de acción inespecífica en el reconocimiento del patógeno y carentes de memoria inmunológica. En sus manos esta combatir la infección desde el momento de su inicio y durante sus primeras fases, es decir hasta aproximadamente el quinto día.

En los últimos treinta años las investigaciones de rigor científico en inmunología tendieron a los mecanismos adaptativos, por considerarse superiores y más complejos, sin embargo la evolución filogenética del sistema inmune revela la necesidad de unos mecanismos innatos.

Los mecanismos innatos son variados, desde evitar infecciones impidiendo el acceso de los microorganismos al cuerpo por barreras externas, piel y mucosas, hasta respuestas celulares a través de fagocitos e inflamocitos, como por ejemplo los neutrófilos, basófilos, entre otros. Se mencionó anteriormente que la respuesta innata se relacionaba con el antígeno inespecíficamente, sin embargo con la reciente identificación de los receptores Toll y su familia, se ha llegado a comprender mejor la asociación entre el patógeno y los ligandos humorales y celulares de la respuesta inmune, hecho que ha derribado el antiguo paradigma de la respuesta no específica (1).

Se conoce como receptor Toll, a una familia de receptores que se comportan como un puente entre los estímulos inmunes de los microorganismos agresores y el inicio de la respuesta de defensa por parte del hospedero. Su activación conlleva a la liberación de péptidos antimicrobianos y citoquinas pro-inflamatorias (2).

Los receptores Toll fueron identificados por primera vez en *Drosophila melanogaster*. Constituían un receptor transmembranal necesario para mantener la polaridad dorso ventral en el embrión en desarrollo. Fue posible observar como el factor Spatzle estimula al receptor, activando el sistema de la quinasa citoplasmática Pelle, la cual suscita la degradación de proteínas específicas, que luego son capaces de asociarse con el factor de transcripción Dorsal en el citoplasma. El factor libre viaja al núcleo y controla la transcripción de genes concretos. La vía de transducción de los receptores Toll en *Drosophila* se asemeja a la vía de la interleuquina 1 (IL 1) en los mamíferos, la cual tiene una participación importante en respuestas inmunes e inflamatorias, a través de la transcripción de NF-KAPPA $\alpha$ . Parte de esta semejanza radica en el dominio intra-citoplasmático que comparten ambos receptores, denominado consecuentemente como dominio Toll/receptor de IL-1 (TIR). La participación de los receptores Toll en la respuesta inmune se hizo evidente al descubrir que las moscas de la fruta (*Drosophila*) que presentaban algún tipo de mutación en los genes de la vía Toll eran susceptibles a la infección por hongos y bacterias.(3)

Receptores análogos a los encontrados en *Drosophila* han sido identificados en mamíferos y se les ha dado el nombre de 'Toll-like receptor' (TLR), es decir receptores similar Toll.

Los TLR reconocen patrones moleculares asociados al patógeno (Pathogen associated molecular patterns PAMPS). Se consideran glicoproteínas transmembrana tipo 1, las cuales se caracterizan por presentar secuencias repetitivas de leucina en el dominio extracelular, al igual que una o dos regiones ricas en cisteína. Dichas secuencias se disponen en forma de herradura, lo que parece estar directamente relacionado con la identificación de los PAMPS. El ya mencionado dominio intracelular brinda la inicial internalización de la señal mediante una definida cascada de señalización (3).

Los receptores Toll fueron identificados en el ser humano por Medzhitov, quien reportó que la transferencia de Toll humano clonado a líneas celulares humanas inducía la activación de TNF- $\alpha$  y la expresión de los genes que son controlados por este mensajero. De igual forma el Toll humano activado inducía la expresión de la molécula coestimuladora B7, la cual es requerida en la activación de linfocitos T inmaduros. Se debe tener en cuenta que solo diez tipos de receptores Toll se han descubierto en el ser humano. Es impresionante como esta familia de receptores ha sido conservada a lo largo de toda la evolución, apareciendo en insectos, vertebrados e incluso plantas.

Los TLR humanos han sido clasificados en cinco subfamilias debido a sus semejanzas en la secuencia de aminoácidos y la estructura genómica. Han sido denominadas familia del TLR3, la del TLR4, la del TLR5, la del TLR2 y la del TLR9. El TLR3 es en parte único ya que está codificado por 5 exones, mientras que los representantes de las otras familias sólo están codificados por uno o dos exones (3).

A pesar de las similitudes estructurales de la familia de TLR cada subtipo de ellos e incluso un mismo TLR varía su señalización intracelular dependiendo de la célula en la cual se localice. Por ejemplo estudios con ratones han revelado que los TLR4 en macrófagos responden a LPS por medio de dos vías de señalización intracelular, ya sea por Trif o la vía dependiente de MyD88. Por otro lado las células endoteliales están limitadas a desarrollar un cascada dependiente de MyD88 únicamente. Estas diferencias de un mismo tipo de TLR pueden ser la explicación a varios procesos inmunológicos normales o patológicos (4).

Los patrones de los TLR durante la diferenciación celular mieloide a célula madura, por ejemplo en ma-

crófagos es desconocida. Se han comenzado a realizar estudios detallados para cada tipo de TLR en especial TLR2 y TLR4, con el fin de identificar los agentes y las citoquinas implicadas en la aparición y diferenciación de cada TLR. Algunos resultados incluyen el hecho que PMA o phorbol 12-myristate 13-acetate induce la expresión de CD14 y TLR2, proporcional a la dosis administrada. La vitamina D3 solo promueve la expresión de CD14 pero no de TLR2. Tras manipular varias variables se dilucidó que la coexpresión CD14/TLR2 o CD14/TLR4 puede ser un hecho en los estadios tempranos de una célula inmune, no obstante se evaluó la producción de citoquinas por parte de estos complejos y se observó que es insuficiente para responder a ataques microbianos, lo cual pone en duda que los hechos observados sean los únicos que tienen lugar en la diferenciación temprana de TLR (5).

El descubrimiento de los TLR en los últimos cinco años ha abierto los horizontes en la comprensión de los eventos moleculares que inician la respuesta inflamatoria. Adicionalmente a sus efectos en la activación de células de importancia inmune y el reconocimiento de secuencias de gran variedad de microorganismos potencialmente patógenos, los TLR también interactúan con un amplio espectro de ligandos humanos endógenos y de esta forma influencia la actividad y los procesos celulares de varios tejidos. Dentro de los procesos comunes e importantes en los cuales los TLR participan se destacan el asma, el síndrome respiratorio agudo, isquemia cardiaca, enfermedades coronarias, necrosis tubular aguda, el remodelamiento ventricular, el colapso vascular, cistitis, artritis reumatoide, nacimientos prematuros, fertilidad, angiogénesis debida a cáncer y rechazo a transplantes (6).

Precisamente por su roll en muchos procesos fisiológicos y patológicos es lógico imaginar que en un futuro y tras intensa investigación sea posible modificar enfermedades a través de la manipulación de TLR. A continuación se presentan resultados de algunas investigaciones que muestran su participación en procesos patológicos. La utilización terapéutica de los TLR hasta ahora esta comenzando a ser apreciada y por tanto resultados certeros todavía están en estudio.

Es parte de la vida cotidiana de todo ser humano enfrentarse a bacterias. Estudios actuales han querido dilucidar la forma de potenciar la respuesta inmune frente a estos tipos de agresores amplificando los TLR. Uno de estos estudios utilizó ratas con heridas térmicas. Su objetivo era observar si infusiones de

solución salina hipertónica potenciaban de alguna forma la respuesta mediada por TLR a una agresión bacteriana. Tras la lesión térmica, la inoculación de *Escherichia coli* y el tratamiento con la solución de interés se cuantificaron TLR2, TLR4, MIP2, CXCR2, pp38, ERK y agentes reactivos de oxígeno. Los investigadores concluyeron que la reposición de líquido extracelular en lesiones térmicas con solución hipertónica disminuye la translocación bacteriana causadas en las quemaduras. De igual forma la solución hipertónica incrementa la actividad fagocítica y la expresión de TLR2 y TLR4, al igual que citoquinas y mediadores de la respuesta inmune. A pesar que la solución hipertónica disminuyó los niveles de especies reactivas de oxígeno, la actividad de los neutrófilos y su expresión de TLR en médula ósea aumentó. En otras palabras la solución salina hipertónica amplifica la respuesta del hospedero frente a una infección bacteriana al aumentar los TLR en las células inflamatorias. Aunque los experimentos fueron realizados en roedores, las conclusiones arrojadas podrían extrapolarse al ser humano y colaborar en el tratamiento de pacientes inmuno-susceptibles como por ejemplo aquellos que padecieron quemaduras en su superficie corporal, entre otras entidades clínicas (7).

Los TLR se encuentran distribuidos en todos los tipos celulares del cuerpo humano, sin embargo con el fin de profundizar en los procesos inmunes en los cuales participan se han llevado a cabo estudios de su expresión y papel en órganos y lugares anatómicos concretos. Las células epiteliales que revisten el lumen uterino por ejemplo son de gran importancia pues constituyen la primera línea de defensa frente a microorganismos patógenos que ingresen al organismo por el aparato reproductor. Soboll y colaboradores realizaron un estudio cuyo objetivo era examinar la expresión de TLR y defensinas en el útero y vagina de roedores y determinar si un agonista de TLR induce la expresión de TLR y defensinas en el tracto reproductor. Mediante Reacción en cadena polimerasa transcriptasa reversa (RT-PCR) y técnicas de ELISA se determinó la expresión de mRNA para alfa y beta defensinas y TLR. Los resultados llevaron a concluir que las células epiteliales responden a patógenos bacterianos y virales de una forma más eficaz con la administración de un agonista de TLR. Las células responden al agonista por un lado liberando la proteína quimotáctica de macrófagos 1 (MCP-1) la cual promueve la respuesta inflamatoria; por otro, impulsando la expresión de genes seleccionados de TLR que permiten disparar la protección inmune innata (8).

Intentar recoger las implicaciones clínicas de todas las subfamilias daría lugar a un trabajo disperso y muy extenso. Ahora se dirige la atención del lector a familias específicas de los TLR concretamente TLR4 y TLR3, detallando en la importancia y el papel que juegan los TLR4 en la inmunidad del ser humano.

Desde un enfoque genético se descubrió que el TLR4 humano se encuentra codificado en el cromosoma nueve, específicamente en el locus 9q32-q33. La unión del TLR4 a su ligando Lipopolisacárido (LPS) requiere de otras moléculas adicionales. El mecanismo de unión TLR4-LPS inicia mediante la unión del ligando con una proteína de unión a LPS presente en el suero. Este complejo es reconocido por el receptor CD14, una molécula anclada por glucosilfosfatidilinositol que se expresa preferencialmente en los monocitos, macrófagos y neutrófilos. A continuación se produce una aproximación física entre el CD14 y el TLR4. Una molécula adyuvante, MD-2, optimiza la respuesta al LPS. Este hecho ha sido comprobado experimentalmente al observar una menor respuesta frente al LPS en ratones con deficiencia de MD-2, cuyos macrófagos, células dendríticas y linfocitos B escasamente responden al LPS. Más aún, los ratones con deficiencia son resistentes a la inducción de sepsis por LPS y se ha visto que la proteína es crucial para la distribución intracelular del TLR4. (3) En humanos se ha observado que la expresión de TLR4 está íntimamente relacionada con exposición a bacterias in vivo e in vitro. Investigaciones han revelado que la expresión de TLR4 en membranas de monocitos de pacientes sépticos es superior a pacientes sanos. Sin embargo no se observa un incremento en la respuesta a LPS. Los resultados permitieron concluir que en algunas infecciones severas los TLR4 son ineficaces en la identificación de LPS sin embargo el organismo aumenta su expresión. Se debe destacar que este incremento en TLR4 se observó únicamente en la superficie de los monocitos, no en los granulocitos (9).

Otra proteína de superficie -RP105- también está involucrada en el reconocimiento de LPS. La RP105 contiene un dominio LRR estructuralmente relacionado con la porción extracelular de los TLR y se expresa fundamentalmente en linfocitos B (3).

La intervención de los TLR4 en la respuesta inmune es muy variada. Por ejemplo se han involucrado en los procesos inflamatorios como mediadores de la proteína de shock térmico HSP60, la cual activa las células de músculo liso vascular y macrófagos. Sin

embargo, la evidencia experimental que se tiene hasta el momento no sugiere que el TLR4 reconozca directamente la HSP60. Un ejemplo de esta función del TLR4 se observa en la inflamación que acompaña la arteriosclerosis relacionada con la infección por *Chlamydia pneumoniae*. Así mismo marcadores de la inflamación como depósitos de fibrina extravascular alertan de la existencia de un daño tisular, infección o trastornos inmunológicos. La capacidad del fibrinógeno de inducir producción de quimoquinas por los macrófagos está mediada por el TLR4.

Estudios en busca de la relación de TLR4 y la inflamación han sido útiles para vislumbrar hechos de gran utilidad en la clínica actual; un ejemplo de ello es la investigación de Gutiérrez Cañas y col. en España, quienes encontraron una relación entre los TLR4 y la producción de quimoquinas pro-inflamatorias por parte de los fibroblastos reumatoides del líquido sinovial. La investigación concluyó que la utilización del péptido intestinal vasoactivo (VIP) era eficaz en el tratamiento terapéutico de pacientes con artritis reumatoide. Esto se debe a su capacidad de inhibir la activación y señalización del TLR4 y consecuentemente disminuir la secreción de TNF, en otras palabras regular la inflamación (10).

Sin embargo los efectos pro-inflamatorios mediados por TLR4 no son siempre benéficos para el organismo. Un estudio reciente mostró como los TLR4 participan en disfunción del ventrículo izquierdo inducido por LPS de *Escherichia coli*. Aunque no se reveló las vías de señalización por las cuales los TLR4 son responsables de la disfunción miocárdica, se pudo observar que en ratones deficientes en TLR4 se presenta una disminución y retraso en la producción de mediadores pro-inflamatorios que incluyen TNF, IL-1 y óxido nítrico. Por tanto dado que estas moléculas producen depresión miocárdica en varios modelos su déficit explica la ausencia de disfunción del ventrículo izquierdo en ratones con TLR4 disminuido. (11, 12, 13). La investigación también reveló concentraciones disminuidas de cGMP y disminución en la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) en los ratones deficientes en TLR4. Teniendo en cuenta los hechos observados se sugirió que TLR4 juega un papel importante mediando los efectos nocivos del LPS en la función miocárdica del ventrículo izquierdo. La interrupción de la señalización mediada por TLR4 podría resultar una estrategia efectiva en la prevención o la detención de los efectos perjudiciales del LPS en la estructura y función del corazón (14).

Investigaciones han revelado otros efectos adversos de la activación de TLR4 en circunstancias determinadas. Por ejemplo Katherine A. Barsness y col. estudiaron los efectos de TLR4 en hemorragias severas con infección bacteriana sobreañadida. El LPS de bacterias sumadas a la hemorragia activa los TLR4 los que a su vez inducen la producción de IFN $\alpha$ , TNF y quimoquinas que estimulan la activación y reclutamiento de polimorfonucleares. El depósito de estos últimos en órganos sistémicos conlleva a daño tisular, por ejemplo infiltraciones en pulmones que resultan en abscesos y aumento de la permeabilidad vascular que se traduce en edema (15).

La inflamación crónica y alteraciones en el metabolismo lipídico constituyen sellos característicos y colaboradores de aterosclerosis. Se han venido acumulando evidencias experimentales que sugieren que los mecanismos de defensa de la inmunidad innata podrían interactuar con las vías pro-inflamatorias y quizás exacerbar o incluso iniciar el desarrollo de las placas lipídicas en las arterias. Resultados recientes implican a los TLR4 y las moléculas MyD88 en la patogénesis de la arteriosclerosis como mediadores de la inflamación frente a patógenos extraños al igual que a ligandos endógenos pro-inflamatorios (16).

Los TLR4 también participan en la visión. Se observó que su presencia en las células epiteliales de pigmento en la retina colabora en el desecho de segmentos externos del fotorreceptor (POS) que son defectuosos. Los estudios revelaron que precisamente estos POS son los que inducen cambios metabólicos, señalización a través de calcio y producción de metabolitos reactivos de oxígeno en las células epiteliales mencionadas, mecanismos mediados todos por TLR4. Se especula que la acumulación de TLR4 en el ojo participe en fisiopatología de procesos inflamatorios en este órgano como son la uveítis, degeneración macular relacionada con la edad y retinopatía proliferativa. Se cree que la unión TLR4-POS crea un ambiente local pro-inflamatorio que podría ser activado por pequeñas perturbaciones del medio ocular, como por ejemplo la presencia de quimoquinas, LPS, etc. (17).

Los TLR4 también están relacionados con otros ligandos distintos al LPS, pero que conservan similitudes bioquímicas y estructurales a este. En respuesta al daño tisular se producen diversos componentes de la matriz extracelular: fibronectina, ácido hialurónico y heparín sulfato, que parecen importantes en el proceso de remodelamiento tisular. El dominio A de

la fibronectina tiene actividades inmuno-estimulantes similares a las ocasionadas por LPS; en la respuesta a dicho dominio está involucrado el TLR4. Así mismo, la activación de células dendríticas por ácido hialurónico está mediada por TLR4 (3).

Además se ha visto que el TLR4 reconoce algunos ligandos endógenos. Varios estresantes, como shock térmico, radiación ultravioleta e infección por bacterias y virus aumentan la síntesis de proteínas de shock térmico. Estas proteínas inducen macrófagos y células dendríticas a secretar citoquinas pro-inflamatorias y expresar moléculas coestimuladoras. Por este motivo se considera que las proteínas de shock térmico podrían representar una señal endógena de peligro cuyo mecanismo esta mediado por TLR4.

Dentro del campo de la terapéutica el estudio de los TLR4 ha explicado respuestas del organismo que en el pasado eran desconocidas. En el ámbito de las vacunas se observa que algunas provocan respuestas endotóxicas más severas en comparación a otras. La sensibilidad de los TLR4 a secuencias de LPS determinadas han explicado por ejemplo porque las vacunas de inóculo vivo de la *Francisella tularensis* generan reacciones inflamatorias y bajas respuestas endotóxicas en comparación con *Escherichia coli*. La explicación es que la IVS (vacuna de inóculo vivo) de *tularensis* activa la señalización vía TLR4 a concentraciones superiores a las requeridas por el LPS de *Escherichia coli*. En otras palabras TLR4 es mas sensible a antígenos de *Escherichia coli* y consecuentemente se observa su reacción inmune aún cuando las concentraciones del antígeno sean bajas (18).

Otro ejemplo de los horizontes clínicos que se han comenzado a alcanzar gracias a los TLR es la lucha contra el cáncer. En la respuesta inmune normal de un individuo se ha observado que los TLR pueden inducir la apoptosis celular, por ejemplo cuando se trata de una infección viral. En un estudio reciente se pretendió inducir la vía apoptótica de células malignas de mama a través de un vía dependiente de TLR3, utilizando dsRNA sintético que asemeja el dsRNA viral. A nivel molecular se detalló que el proceso pro-apoptótico involucra un adaptador molecular Toll/IL-1R el cual contiene adaptadores para IFN tipo 1. El papel pro-apoptótico de IL-1R asociaba la quinasa-4 y NF- $\alpha$ , activando de esta forma las caspasas extrínsecas. Estos resultados pueden abrir incluso mas posibilidades terapéuticas utilizando TLR3 como agentes citotóxicos en determinados cánceres. (19)

Los Toll-like receptors han revolucionado la comprensión molecular de los procesos inmunológicos. En la actualidad se esta extrapolando este conocimiento al tratamiento y la prevención clínica de varios desordenes. No es descabellado pensar que en un futuro muchas enfermedades sean curadas o prevenidas mediante la manipulación molecular de los protagonistas inmunes, entre ellos los TLR.

## REFERENCIAS

1. Ian Sabroe, Robert C. Read, Moira K. B. Whyte, David H. Dockrell, Stefanie N. Vogel. And Steven K. Dower, Toll-Like Receptors in Health and Disease: Complex Questions Remain. *The Journal of Immunology* 1630-1635. 2003.
2. Definición consultada en Marzo 2006 en la página: <http://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=22512>
3. Receptores Simil Toll. Takeda K, Kaisho T y Akira S. Consultado en Marzo 2006 en la página: <http://www.bago.com/BagoArg/Biblio/alergweb158.htm>
4. Harari, Oliviar A; Alcaide, Pilar; Ahl, Daniela; Lusinskas, F William; Liao, Jarnes K. Vascular Medicine Research (O.A.H., D.A., J.K.L.) and Department of Pathology (P.A, F.W.L.), Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School Circulation Research. Absence of TRAM Restricts Toll-Like Receptor 4 Signaling in Vascular Endothelial Cells to the MyD88 Pathway. 98(9):1134-1140. 2006.
5. Changlin U, Yibing Wang, U Gao, Jingsong Zhang, Jie Shao, Shengnian Wang, Wei~ Feng, Xingyu Wang, Minglie U. and Zongliang Chango Cell Growth & Differentiation Vol. 13, 27~, Expression of Toll-like Receptors 2 and 4 and CD14 during Differentiation of HL-60 Cells Induced by Phorbol12-Myristate 13-Acetate and 1, alfa 25-Dihydroxy-Vitamin D3. January 2002.
6. Cristofaro, Patricia; Opal, Steven M. Role of Toll-Like Receptors in Infection and Immunity: Clinical Implications Institution Infectious Disease Division, Brown Medical School, Providence, Rhode Island, Drugs. 66(1):15-29, 2006.
7. Chen, Lee-Wei MD, PhD; Huang, Hau-lun BA; lee, 1- Te BA; Hsu, Ching-Mei PhD; lu, Pei-Jung PhD Hypertonic saline enhances host defense lo bacterial challenge by augmenting Toll-like receptors. *Critical Care Medicine*. 18 April 2006 Department of Surgery, Causing Veterans General Hospital, National Yang-Ming Medical University, Taipei (I-WC, I-TL), R.O.C; and the Institute of Biomedical Sciences (H-LH) and Department of Biological Sciences (C-MH, P-JL), Nafn Sun Yat-Sen University, Kaohsiung, Taiwan. RO.C.
8. Soboll, Gisela; Schaefer, Todd M.; Wira, Charles R. Effect of Toll-Like Receptor (TLR) Agonists on TLR and Microbicide Expression in Uterine and Vaginal Tissues of the Mouse.. Department of Physiology, Dartmouth Medical School, Lebanon, NH, USA *American Journal of Reproductive Immunology*. 55(6):434-446.
9. K Brandl, T. Glück, C. Huber, B. Salzberger, W. Falk, P. Harbnann. TLR-4 Surface Display on human monocytes is increased in septic patients. Department of Internal Medicine 1, University of Regensburg, Germany. *European Journal of Medical Research*. Eur J Med Res (2005) 10: 1-6 . Holzapfel Publishers 2005

10. Gutiérrez-Cañas, Y. Juarranz, B. Santiago, A Arranz, C. Martínez, M. Galindo, M. Payá, R. P. Gomariz, and J. L Pablos. VIP down-regulates TLR4 expression and TLR4-mediated chemokine production in human rheumatoid synovial fibroblasts 1. Artículo consultado en Abril 2006 en: <http://rheumatology.oxfordjournals.org/doi/full/10.1093/rheumatology/45.4.411>
11. Finkel MS, Oddis CV, Jacob ID, Watkins SC, Hattler BG and Simmons RL. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 251: 387-389, 1992
12. Gulick TS, Chung MI, Pieper SJ, Lange LG and Schreiner GF. Interleukin 1 and tumor necrosis factor inhibit cardiac myocyte adrenergic responsiveness. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 6753-6757, 1989.
13. Yokoyama T, Vaca L, Rossen RD, Durante W, Hazarika P. and Mann DI Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor in the adult mammalian heart. *Journal of Clinical Investigation* 92:2303-2312, 1993.
14. Shintaro Nemoto, Jesús G. Vallejo, Páaseal Knuefermann, Arunima Misra, Gilberto Defreitas, Blase A. Caraballo and Douglas L Mann. Escherichia coli LPS-induced LV dysfunction: role of toll-like receptor-4 in the adult heart. *American Journal of Physiology. Heart Circ Physiol* 282: H2316-H2323, 2002; 10.1152/ajpheart.100763.2001.
15. Katherine A Barsness, John Arcaroli, Alden H. Harken, Edward Abraham, Banerjee, Leonid Reznikov and Robert C. McIntyre. Hemorrhage-induced acute lung injury is TLR-4 dependent. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287:592-599, 2004. First published Apr 8, 2004. doi:10.1152/ajpregu.00412.2003
16. Michelsen, Kathrin S; Arditi, Toll-like receptor signaling and atherosclerosis. *Moshe Division of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, Bums and Allen Research Institute, University of California Current Opinion in Hematology.* 13(3):163-168, May 2006.
17. Andrei L Kindzelskii, Victor M. Elnor Susan G. Elnor Dongli Yang Bret A Hughes and Howard R. Petty. Toll-Like Receptor 4 (TLR4) of Retinal Pigment Epithelial Cells participates in transmembrane signaling in response to Photoreceptor Outer Segments. *The Journal of General Physiology.*
18. Dueñas, Ana I; Aceves, Mónica; Orduna, Antonio; Díaz, Rarion; Crespo, Mañana Sánchez; García-Rodríguez, Carmen. Francisella tularensis LPS induces the production of cytokines in human monocytes and signals via Toll-like receptor 4 with much lower potency than E. coli LPS. *International Immunology.* 18(5):785-795, May 2006
19. Bruno Salaun, Isabelle Coste, Marie-Clotilde Risoan, Serge J. Lebecque and Toulic Renno. TLR3 Can Directly Trigger Apoptosis in Human Cancer Cells. *The American Association of Immunologists. The Journal of Immunology,* 2006, 176: 4894-4901.
20. Roitt, Iván M. Delves, Meter J. *Inmunología Fundamentos.* Décima edición. Editorial Médica Panamericana Páginas 1-21.
21. Stites, Daniel P. Terr, Abba 1. Parslow, T.G. *Inmunología básica y clínica.* Novena edición en español. Editorial El Manual Moderno. Páginas 21-40.
22. Nessa, Begum Nurun MD et al. Toll-like receptor 3 mediated hyperphosphorylation of tau in human SH-SY5Y neuroblastoma cells.. Department of Post Genomics and Disease, Division of Psychiatry and Behavioral proteomics, Osaka University. *Psychiatry & Clinical Neurosciences.* 60 (Supplement 1):827-833, April 2006.
23. Gisela Soboll, ti Shen, and Charles R. Wira. Expression of Toll like Receptors (TLR) and Responsiveness to TLR Agonists by Polarized Mouse Uterine Epithelial Cells in Culture. *Biol Reprod* 2006, 10.1095/biolreprod.106.050690

## RESPUESTA TH1 Y TH2 EN LA GESTACIÓN

CLARA STELLA MARTÍNEZ OTÁLORA<sup>1</sup>, DIANA PACHÓN<sup>2</sup>

### Resumen

La placenta produce hormonas y proteínas asociadas al embarazo que suprimen la respuesta inmune y favorecen la tolerancia fetal, hay una reducción de los niveles de citoquinas Th1 y un incremento de Th2. El Aborto Recurrente Espontáneo (ARE) afecta a las mujeres entre la cuarta y décimo-segunda semana de gestación. Los citotrofoblastos expresan un antígeno denominado Antígeno Leucocitario Humano G (HLA-G), importante para la protección fetal pues parece que el contacto directo del trofoblasto que expresa HLA-G con linfocitos y macrófagos maternos es esencial para el establecimiento y mantenimiento del embarazo. Durante la gestación la IgG asimétrica aumenta con respecto a los niveles de IgG simétrica, cuando esto no sucede se presenta el aborto.

**Palabras clave:** aborto recurrente espontáneo, MHC, HLA-G, citoquinas Th1, citoquinas Th2, citoquinas Th3.

### Abstract

Hormones and plasmatic proteins associated to pregnancy take place in the placenta, all of them suppress the immune answer in order to favor fetal tolerance, this implies a reduction of the Th1 cytokines levels and an increment of Th2. Recurrent Spontaneous Abortion (ARE) affects the women between the fourth and twelfth week of pregnancy. The cytotrophoblast expresses an antigen denominate Human Lymphocyte Antigen G (HLA-G), it develops an important function in fetal protection; it seems that direct contact of trophoblast expressing HLA-G (regulated for IL-6) with maternal lymphocytes / macrophages is essential for establishment and maintenance of pregnancy. During pregnancy asymmetric IgG must have an important increase on the levels of symmetrical IgG; when it doesn't happen abortion takes place.

**Key words:** recurrent spontaneous abortion, human lymphocyte antigen G, MHC, Th1 cytokines, Th2 cytokines, Th3 cytokines.

## INTRODUCCIÓN

En la placenta se producen hormonas y proteínas plasmáticas asociadas al embarazo que pueden alterar la respuesta inmune, estas incluyen globulinas  $\alpha_2$ , glucoproteína  $\beta_1$ , específica del embarazo, lactógeno placentario humano y gonadotropina coriónica

humana, estrógenos y progesterona, todas ellas supresoras de la respuesta inmune que favorecen la tolerancia fetal. Dada la estructura de la placenta, las células inmunes maternas presentes en la sangre estarían en condiciones de reconocer y destruir a las células fetoplacentarias portadoras de antígenos extraños de origen paterno y a pesar de ello no son atacadas (1).

<sup>1</sup> Estudiante III Semestre, Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>2</sup> Docente Facultad de Medicina Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.  
Correo electrónico para correspondencia: [cleramart@yahoo.com](mailto:cleramart@yahoo.com)

Existe una entidad clínica denominada Aborto Recurrente Espontáneo (ARE) adaptado a parejas que sufren dos o más abortos consecutivos. El ARE es una complicación del embarazo que afecta aproximadamente al 2% de las mujeres entre la cuarta y décimo-segunda semana de gestación. Existen dos grandes grupos de problemas inmunológicos que pueden causar la pérdida de un embarazo, fallas en fertilizaciones *in vitro* e infertilidad. Estos grupos se definen según la presencia o ausencia de un factor autoinmune asociado (2). El ARE se presenta en parejas sin antecedentes genéticos, hormonales o anatómicos que expliquen la interrupción del embarazo. Durante el ciclo menstrual y en el embarazo, el endometrio muestra un infiltrado de macrófagos, células NK y linfocitos B y T (3).

Teniendo en cuenta el importante papel que realizan los antígenos de Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) que desempeñan un rechazo de los injertos, el éxito del embarazo se atribuye a que los trofoblastos placentarios carecen de estos antígenos, por lo que la placenta podría actuar como una barrera neutra entre el feto y la madre. Los citotrofoblastos expresan un antígeno denominado Antígeno Leucocitario Humano G (HLA-G), este cumple una función importante en la protección fetal (4).

Se ha mostrado que las células que expresan HLA-G modulan la capacidad de las células mononucleares para incrementar la producción de IL-1 y de IL-3 y la disminución de TNF $\alpha$ . La IL-3 e IL-1 favorecen el crecimiento placentario y el TNF $\alpha$  induce aborto. Por lo tanto, parece que el contacto directo de trofoblasto expresando HLA-G con linfocitos/macrófagos maternos es esencial para el establecimiento y mantenimiento del embarazo (1).

Se considera que un perfil de citocinas Th1 proinflamatorias y citolíticas (IL-2, IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  y TNF- $\alpha$ ) inductoras de respuesta de hipersensibilidad retardada y de linfocitos T citotóxicos (CD8), está asociada con el fenómeno de rechazo, en tanto que un perfil de citocinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13), inductor de linfocitos B y algunos linfocitos T colaboradores (CD4) está asociado con la tolerancia inmunológica y promueve respuestas humorales (4).

Th1 debe estar suprimida durante el embarazo y esta supresión se acompaña por una expresión de citocinas de tipo Th2. Una respuesta de tipo Th1 ocasionaría la reabsorción fetal durante el embarazo mediada por

células NK (activadas por INF $\gamma$ ) o células LAK (células NK activadas por IL-2). La respuesta Th2 podría ser perpetuada por la presencia de IL-6 e IL-10. La población Th3 secreta altos niveles de TGF- $\alpha$  con funciones reguladoras de la respuesta inmune, especialmente asociadas con un efecto supresor.(2,4,5)

Durante la década de 1970 se demostró, para diferentes antígenos y diferentes especies animales, que una respuesta inmune caracterizada por la producción de anticuerpos IgG precipitantes, fijadores del complemento, depuradores antigénicos, se acompaña de una población adicional de células IgG del mismo isotipo que los anticuerpos precipitantes, pero con un comportamiento inmunoquímico y biológico muy distinto de aquellos. Ambos anticuerpos IgG, simétricos y asimétricos, compiten por el antígeno y ello depende de la masa de anticuerpo disponible. El comportamiento de un suero dependerá de la proporción en que ambos anticuerpos se encuentren en la mezcla (4).

Durante la gestación una respuesta de tipo Th2 es beneficiosa, estaría condicionada por la calidad de los anticuerpos que se sintetizan y que en esta regulación intervendría fundamentalmente la IL-6 placentaria, la que al actuar a nivel sistémico sobre las células sintetizadoras de IgG condiciona la glucosilación asimétrica de estas moléculas. En las mujeres embarazadas sanas y en modelos animales, durante la preñez de ratas y ratones no abortadores se ha observado un incremento importante de la IgG asimétrica sérica, en tanto que no hubo modificaciones en el suero de mujeres con abortos recurrentes respecto de mujeres no embarazadas. Al estudiar placentas humanas provenientes de mujeres que presentaban abortos recurrentes espontáneos (ARE), se ha observado un incremento significativo en la expresión de IL-6 que no se correlacionó con un aumento en la proporción de moléculas IgG asimétricas, originándose una respuesta humoral con predominio de anticuerpos IgG simétricos precipitantes. Esto contribuiría a explicar una de las posibles causas de abortos (4).

Un aumento en la tasa de pérdidas fetales se ha observado en parejas compartiendo halotipos HLA. Estos hallazgos y la presencia de anticuerpos anti-HLA en mujeres normales embarazadas sugieren que el reconocimiento materno de aloantígenos paternos en etapas muy tempranas del embarazo debe ser necesario para la inducción de la tolerancia de las células T periféricas o para el establecimiento del embarazo (1).

Mecanismos citotóxicos de agresión son puestos en marcha cuando la células NK interactúan con su "blanco" específico, la proteína R80K, cuya presencia ha sido mostrada en trofoblastos placentarios: no obstante, en el embarazo no se observó agresión en la placenta por células NK. Recientemente se ha observado que esto se debería a que ese receptor está unido a IgG, la cual inhibiría la interacción células NK/receptor (4).

Existen al menos cuatro sitios potenciales en donde puede desarrollarse un rechazo inmunitario fetal: el primer sitio es el feto, el segundo es el constituido por la circulación fetoplacentaria, el tercer blanco potencial de ataque es el trofoblasto y el cuarto sitio donde puede inducirse el rechazo es la vasculatura materna (4).

Hay tres posibles mecanismos por medio de los cuales el embrión evita el ataque materno:

- La separación anatómica entre la madre y el feto: la placenta también tiene como función mantener un ambiente inmunológico adecuado. En la decidua materna hay células del sistema inmune como NK que producen TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , linfocitos T que producen también IFN- $\gamma$  y macrófagos; todos ellos tienen un papel inmunoregulador (5).
- La inmadurez antigénica del feto: la ausencia de moléculas HLA-I en el Trofoblasto Vellositario (TV) implica la ausencia de respuesta inducida por la interacción HLA-I y el receptor CD8. Por ende, no existirá activación, división, diferenciación ni actividad efectora de los linfocitos Tc, por lo que la actividad citotóxica de estos frente al TV quedaría suprimida (5).
- La tolerancia inmunitaria materna: las células de la placenta fabrican (o expresan) una proteína IDO, que degrada el aminoácido triptófano, esencial para la supervivencia de las células T. Este es el mecanismo de mayor relevancia (5).

Los leucocitos son un constituyente importante del endometrio humano. Durante la fase proliferativa del ciclo menstrual llegan a formar el 10% de las células del estroma, en los momentos previos a la implantación constituyen el 20% y en las etapas tempranas del embarazo, cuando el endometrio se convierte en decidua, llegan a constituir el 30% de las células deciduales. La población celular presente en la decidua

está formada por macrófagos, células NK, linfocitos B y linfocitos T. En particular los linfocitos T y las células NK constituyen poblaciones heterogéneas, ya que pueden identificarse subpoblaciones de acuerdo con el patrón de citocinas que secreten. La placenta es un órgano inmunoabsorbente que disminuye la respuesta contra el feto; los anticuerpos producidos por el sistema inmune de la madre contra antígenos de origen paterno son atrapados por este órgano (1,2).

La producción de citocinas en la decidua no se limita a los leucocitos, el trofoblasto constituye la fuente principal de IL-4 e IL-10; estas citocinas determinan la diferenciación de los linfocitos precursores hacia un patrón tipo Th2. En la generación de la tolerancia materna participa también la población Th3, estas son activas productoras de TGF- $\alpha$ 2, una citocina que participa en la inducción de tolerancia a nivel de las mucosas hacia los antígenos ingeridos oralmente y que también es producida por la subpoblación linfocitaria tipo  $\gamma$   $\delta$  (1).

La pérdida de expresión de moléculas clase I puede ser revertida por estimulación con citocinas inflamatorias e IFN- $\gamma$ . El trofoblasto expresa las moléculas clase I clásicas tanto maternas como paternas de manera codominante. Aunque el IFN- $\gamma$  no puede inducir la expresión de moléculas clase II en el trofoblasto se ha observado expresión aberrante de estas moléculas sobre el trofoblasto en procesos inflamatorios crónicos de etiología desconocida, induciendo abortos espontáneos recurrentes (1).

Hay varios tipos de abortos recurrentes de origen autoinmune, como lo son:

- Presencia de anticuerpos antifosfolípidos.
- Presencia de anticuerpos anticomponentes del núcleo celular.
- Anticuerpos antiespermatozoides.

El tratamiento de estos abortos se realiza mediante el empleo de aspirina como anti-agregante, heparina, glucocorticoides o IgG intravenosa (4).

Y también hay tipos de abortos recurrentes espontáneos de origen no autoinmune los cuales se tratan con inmunización con leucocitos paternos. El fundamento del tratamiento en este caso radica en estimular el sistema inmune materno para generar una respuesta adecuada hacia antígenos semiallogénicos fetales. Para tratar estos casos hay técnicas que se utilizan en

el seguimiento de pacientes con abortos recurrentes espontáneos y estos son: el cultivo mixto linfocitario y el *Cross-match* por citometría de flujo (4).

Es indispensable que la madre tenga un sistema inmune que se adapte al feto alogénico, ya que es a falta de éste que se presentan los ARE; en caso de que el mismo falle por cualquiera de los factores antes mencionados, es conveniente que la madre reciba un tratamiento que contrarreste esta falencia.

## REFERENCIAS

- 1) Salazar, Luz Margarita. Alelos compartidos de los genes de las moléculas Hla clase II en parejas con aborto habitual. Colima, Colombia. Mayo de 2002.
- 2) Ramhorst, Rosanna E. y Fainboim, Leonardo. Mecanismos inmunológicos involucrados en la prevención del rechazo semialogénico fetal y sus posibles fallas en los abortos recurrentes espontáneos. Revista de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva. Argentina.
- 3) Fainboim, Leonardo. Patrón de secreción de citoquinas de leucocitos endometriales en mujeres abortadoras recurrentes, respuesta a la inmunoterapia con células mononucleares parentales. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.
- 4) Rabinovich, Gabriel. Inmunopatología molecular: nuevas fronteras de la medicina. Buenos Aires, Argentina: Panamericana, 2004.
- 5) De los santos, M<sup>a</sup>, Remohí J, Pellicer A, Serra V. Mecanismos inmunológicos de la gestación. Revista Iberoamericana de fertilidad. Mayo-Junio 2005.
- 6) Regueiro, J.R. Inmunología Biología y patología del sistema inmune. Panamericana. 3<sup>a</sup> edición.
- 7) Roitt, Ivan, Brostoff, Jonathan, Male, David. Inmunología. Madrid, España: Harcourt Brace, 4 edición, 1998.
- 8) Abbas, Abul K., Lichtman, Andrew H., Pober, Jordan S. Inmunología celular y molecular. Madrid, España: McGraw Hill, 4 edición. 2002.
- 9) Segura, Ana María, Md. Inmunología De La Gestación. Revista de la Asociación Colombiana de Alergia, Asma e Inmunología. Diciembre 2002.
- 10) Veenstra, Van Nieuwenhoven Al, Heineman Mj, Faas MM. The immunology of successful pregnancy. Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital, Groningen, The Netherlands. Pubmed. Jul-Aug 2003.
- 11) Laird Tuckerman EM, Cork Ba, Linjawi S, Blakemore AI, LI TC. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. Biomedical Research Centre (BMRC), Sheffield Hallam University, Sheffield, UK. Pubmed. Mar-Apr 2003.
- 12) Rodríguez, Milena, Dra. Sosa, Leticia, Marcos, Antonio, Araña, Manuel, González, Alina y León, Abel. Evaluación de niveles séricos de citoquinas proinflamatorias y marcadores de estrés oxidativo en mujeres embarazadas a término. Rev Cubana Endocrinol. 2005.
- 13) Aborto recurrente. En: [http://escuela.Med.pud.cl/departamentos/obstetricia/altoriesgo/aborto\\_recurrente.html](http://escuela.Med.pud.cl/departamentos/obstetricia/altoriesgo/aborto_recurrente.html)
- 14) Takeshita, Toshiyuki. Diagnosis and Treatment of Recurrent Miscarriage Associated with Immunologic Disorders: Is Paternal Lymphocyte Immunization a Relic of the Past?. Department of Obstetrics and Gynecology, Nippon Medical School. 2004
- 15) Bautista, Alejandro, MD. Embarazo y endotelio. Endotelio. com Bogotá Colombia. 14 May, 2006.
- 16) Romagnasi S. Interleuquinas Th1, Th2. Revista dermatología peruana - vol. 9, suplemento 1, Diciembre 1999.
- 17) Margni, Ricardo. Inmunología de la reproducción, los anticuerpos IgG asimétricos en la protección del feto. Instituto de Estudios de la Inmunidad humoral. Buenos Aires. Argentina.
- 18) Revista de Ginecología y Obstetricia de Venezuela. Interleucina-10 sérica en preeclampsia. En:<http://infomedonline.com.ve/biblioteca/Revistas/obstetricia/obs603art4.pdf>
- 19) Méndez, Armando. Modulación funcional de las células T en la decidua. Revista Médica de la Universidad veracruzana. Veracruz, México. Julio - Diciembre 2002.
- 20) Revista de la asociación colombiana de alergia, asma e inmunología. Citoquinas en la implantación. Volumen 9. Número 1, Marzo 2000.
- 21) Revista de Ginecología y Obstetricia de Venezuela. Interleucina 4 en el suero de embarazadas normales y preeclámpicas. En: <http://infomedonline.com.ve/biblioteca/Revistas/pbs-tetricia/obs602art2.pdf> 2000
- 22) Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Grupo Aborto de Repetición. Aborto de repetición. En: <http://www.sgdelu.org/Guias/SEGO/Aborto%20de%20repeticion.pdf>
- 23) Ederra, Paula. Departamento Inmunología e Inmunogenética. Infertilidad. En: <http://www.iaca.com.ar/boletin313.htm> - 2006.
- 24) López, Gemma. El embarazo, una inflamación potencial. BIOMEDIA Noticia. Rubes Editorial. Barcelona. Febrero 23 de 2001.
- 25) Programa de Reproducción - Grupo BIOGÉNESIS, Universidad de Antioquia. Resultados de una segunda gestación en pacientes aborto recurrente espontáneo, aloimmunizadas para su primera gestación. Antioquia.

## TERAPIA GÉNICA: ¿MILAGRO PARA EL CÁNCER DE SENO?

CAROLINA RUIZ<sup>1</sup>, MARIA T. ZABALA<sup>2</sup>,  
YULLY GONZÁLEZ<sup>3</sup>, MARÍA ESCOBAR<sup>4</sup>, DORIS GÓMEZ<sup>5</sup>

### RESUMEN

El cáncer de seno es la causa fundamental de fallecimiento en las mujeres entre los 40 y los 55 años. Se presenta por la mutación en los genes BCRA1, BCRA2 y Tp53, implicados en la replicación, transcripción y reparación del DNA; llevando al desarrollo de células tumorales y su progresiva metástasis. Esta predisposición genética unida a factores como: edad, dieta, alcohol, factores hormonales y reproductivos, aborto, embarazo, raza, entre otros; pueden producir la muerte.

Debido a la magnitud que se esconde detrás de un cáncer, se ha visto en la terapia génica una oportunidad para que la mujer supere o conlleve dicho mal. Esta consiste en producir un nivel más alto de actividad antitumoral, mayor selectividad tisular y menos efectos colaterales que la terapéutica convencional; por medio de la implantación de material genético en la célula para añadir o modificar sus funciones.

Es por esto, que nuestra revisión busca proporcionar los conceptos necesarios para que una mujer que padezca o no de dicho problema, además de conocer el trasfondo de la enfermedad, vea una oportunidad de vida.

**Palabras claves:** genes BRCA1, BRCA2 y Tp53

### ABSTRACT

Breast cancer is the main cause of death in woman between 40 and 55 years. It could appear by the mutation in BCRA1, BCRA2 and Tp53 genes which are implied in replication, transcription and repair of the DNA, taking to the development of tumor cells and its progressive metastasis.

This genetic predisposition together with factors like: age, diet, alcohol, hormonal and reproductive factors, abortion, pregnancy, race, others; they could carry to death. The consequences hide behind a cancer, an opportunity has been seen in the genic therapy so that the woman surpasses this illness. This consists of producing a higher level of antitumoral activity, greater tissue selectivity and less collateral effects than conventional therapeutic; by means of the implantation of genic material in the cell to add or to modify its functions. It is by this, that our review looks for to provide the necessary concepts so that a woman who suffers or not of this problem, besides to know consequences of this disease, sees a life opportunity.

**Key words:** BRCA1, BRCA2 and Tp53 gene

---

<sup>1</sup> Estudiante V Semestre de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>2</sup> Estudiante V Semestre de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>3</sup> Estudiante V Semestre de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>4</sup> Estudiante V Semestre de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>5</sup> Docente, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada.  
Dirección electrónica para correspondencia: amaliacr16@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

Entendible o no el cáncer de mama crea dudas en las mujeres. ¿Por qué?, tal vez porque golpea sentimientos de feminidad; o porque ataca mujeres en momentos muy poco esperados?. Independiente de cual sea la respuesta, las estadísticas hablan por sí solas:

1 de cada 9 mujeres padece dicha enfermedad. Cada año 100.000 casos son reportados, atacando entre los 40 y los 70 años de edad principalmente. Es la fundamental causa de fallecimiento en las mujeres entre los 40 y los 55, y es el más frecuente a partir de los 15. Pero aún así un diagnóstico temprano, lleva a que el 95% de los casos tenga esperanzas de vida (1).

## FACTORES DE RIESGO

La incidencia del cáncer de seno aumenta con la edad, aunque se retarda en la menopausia. Las mujeres que tuvieron una menarquia temprana, menopausia tardía y/o son nulíparas tienen un mayor riesgo de contraer cáncer de seno. Otros factores de riesgo son la terapia con reemplazo de estrógenos, radiación prematura, y el alcoholismo. El más importante es el antecedente familiar de cáncer de seno. Aproximadamente el 10% de estos cánceres ocurren por trascendencia genética, y hay varios síndromes familiares que lo incluyen como: seno-ovárico del cáncer, síndrome de li-Fraumeni y enfermedad de Cowden (2).

## PAPEL HEREDITARIO EN CÁNCER DE SENO

La predisposición de una mujer a padecer cáncer de seno está asociado a mutaciones en los genes BCRA1 y BCRA2. A su vez, hay diferencias entre los dos tipos de cáncer (BCRA1 y BCRA2) (3).

### BCRA1

A la mutación directa o la alteración en la expresión de la proteína BCRA1 se le atribuye el 45% de los cánceres de mama hereditarios y también está implicado en cáncer de ovario, carcinoma papilar del peritoneo y cáncer de próstata (3,4).

### Funciones

Actúa como un regulador negativo del crecimiento y proliferación de las células epiteliales del ovario y la

mama en respuesta a los niveles de estrógenos (sin embargo no tiene efecto directo sobre el desarrollo posterior de las ya células cancerígenas mamarias), además participa en los procesos de replicación, transcripción y reparación del DNA a través del complejo formado con la proteína BRCA2, los cuales intervienen en la reparación de la doble cadena y recombinación homóloga. Dicho daño, está mediado por el complejo RAD50-MRE11-p95 que codifica productos supresores tumorales controlados por el influjo hormonal (3).

La reparación del DNA se da gracias a que el BCRA1 se separa de la CHK2 por medio de una fosforilación de un residuo de serina (3).

Se encontró que el mRNA de BCRA1 está marcadamente disminuido durante la transición de carcinoma in situ a cáncer invasivo; llevando así a acelerar el crecimiento normal, facilitando la malignidad de las células epiteliales del tejido mamario (3).

BRCA 1 actúa como supresor de la proliferación del epitelio mamario dependiente de estrógeno, inhibiendo el ER-alfa que media caminos transcripcionales relacionados con la proliferación celular, llevando a tumorigénesis (3).

Finalmente está implicado en mecanismos de secreción de factores autocrinos y paracrinos que inducen la diferenciación del epitelio mamario en respuesta a señales que se generan en la matriz extracelular (3).

### Estructura

Se encuentra en el cromosoma 17q12-21. Contiene 24 exones de los cuales 22 son codificantes, distribuidos a lo largo de unos 100 kb de ADN genómico (5).

### Dominios

1. Dedos de Zinc: Característico de muchos factores de transcripción y está implicado en la interacción de proteínas con el DNA y en la unión proteína-proteína. BRAD1 interactúa con la región amino terminal de BCRA1 (5).
2. Dominio C terminal (BRCT): en las proteínas de los puntos de chequeo del DNA dañado del ciclo celular, formado por 100 aminoácidos repetidos en tándem. Los dominios BRCT probablemente se asocian en pares formando homo y heterodímeros que actúan como sitio de unión de fosfoproteínas (6).

Interactúa con 1t15 una proteína antitumoral que forma un complejo con la región fosforilada de la heli-casa Bach 1. (7). Este dominio se interrelaciona con la proteína supresora tumoral p53 formando el complejo Igzh implicado en la regulación génica (6).

## BRCA2

Compuesta por 28 exones y 27 intrones. Sus alteraciones están relacionadas con una mayor susceptibilidad de padecer cánceres esporádicos y familiares (3,8).

### Funciones

Reparación del DNA, mantenimiento de la estabilidad cromosómica, regulación de la proliferación y la diferenciación de las células epiteliales mamarias en unión con BRCA1. Se comporta como un gen supresor tumoral cuya expresión máxima es durante la fase S del ciclo celular, lo cual sugiere que participa en su regulación (3).

BRCA 1 y BRCA2 hace parte de los genes “caretaker”: relacionados con mantenimiento de la integridad genómica; su inhibición promovería la inestabilidad y mutación de muchos genes incluidos los “gatekeeper”, relacionados con el desarrollo de la neoplasia. Una vez se inactiva los genes “caretaker” se incrementa la tasa de mutación en genes implicados en el crecimiento o muerte celular (3).

Se ha identificado una interacción entre BRCA2 y la proteína de reparo del DNA: Rad51, en mecanismos por rompimiento de cadena. BRCA2 se encarga de controlar la ubicación intracelular y la unión al DNA de Rad51 (3).

El papel de BRCA2 frente a daños celulares se ha evidenciado al incrementarse por exposición a agentes genotóxicos, luz ultravioleta y metilaciones; funcionando como un punto de ajuste en mecanismos de activación e inducción de apoptosis celular. Por el contrario hay una disminución del mismo en la fase G1 y G2/M del ciclo celular en las que hay un aumento de P53 y P21 (3).

En los cánceres de mama familiares se han identificado 6 diferentes mutaciones en la línea germinal de BRCA2, causando una importante alteración en el marco de lectura porque se trastorna la unidad

transcripcional: microinserciones y mutaciones en un solo punto en BRCA1 y microdeleciones en BRCA2 (3).

### Dominios

Esta proteína contiene 39 aminoácidos repetidos necesarios para la unión de RAD51, proteína clave en la reparación del DNA por recombinación y la resistencia a la metilación. Existen ocho regiones repetitivas en BRCA2, de las cuales BRC8, BRC1, BRC2, BRC3, BRC4 y BRC7 tienen las regiones más altamente conservadas de unión a Rad 51 (9).

## Tp53

Encontrado en el cromosoma 17, codifica para una proteína involucrada en la división y la viabilidad celular. La proteína p53 funciona para prevenir el crecimiento celular descontrolado; interactúa directamente con el ADN y otras proteínas. Cuando hay daño del ADN causa muerte celular o apoptosis (10).

La proteína se encuentra en el núcleo donde funciona como un factor de transcripción. Activa la transcripción de p21: un inhibidor de las quinasas actuantes por medio de ciclinas, enzimas indispensables para la división celular. Evitando así la replicación celular (10).

Una célula que carece del p53 tiene probabilidad de volverse cancerosa. Alrededor del 37% de los casos tienen represión de esta proteína al citoplasma con ausencia en el núcleo, y en el 30% hay sobre expresión (10).

Las mutaciones que inactivan p53 pueden ser adquiridas durante la vida del individuo (mutaciones esporádicas) o pueden ser heredadas (10):

1. Mutación de tipo germinal: síndrome de Li-Fraumeni, incrementando el riesgo de contraer cáncer de mama (11).
2. Pérdida de heterocigocidad (LOH) (11,12).
3. Daño de proteínas encargadas de activar a Tp53 cuando el DNA sufre; es así el caso de ATM, Chk2 (proteínas que fosforilan a Tp53, activándolo), y defecto en el promotor HOXA5 del gen Tp53 (12,13).
4. Alteración de proteínas coactivadoras: ASPP: promueve la apoptosis (11,12).

5. Algunos virus como hepatitis B, Epstein-Barr (VEB) y oncogenes hacen que la proteína Tp53 deje de funcionar (12).

## SIGNOS Y SÍNTOMAS

Aproximadamente 5 a 10% de las pacientes con historia familiar de cáncer de seno pueden ser parte de síndrome de cáncer heredo-familiar. La presentación clínica es de espectro amplio: desde la ausencia de signos y síntomas, hasta cuadros clínicos evidentes que caracteriza los estados avanzados, como masa firme e indolora, alteraciones de la piel (retracción, enrojecimiento, edema, ulceración o retracción del pezón) (4).

La masa que no causa dolor, que es dura y que tiene bordes irregulares tiene más probabilidades de ser cáncer. Los ganglios palpables pueden ser móviles o fijos, o ser palpables como un conglomerado. Algunas pacientes pueden presentar la adenopatía axilar como primera manifestación clínica, sin que se pueda palpar una masa mamaria (4).

La secreción por el pezón debe conducir a la sospecha de neoplasia, especialmente en telorragia (secreción sanguinolenta por el pezón) (4).

Inflamación de alguna parte del seno, irritación o fisuras en la piel, molestia en el pezón o que el pezón se invierta, enrojecimiento o descamación de la piel del seno o del pezón (4).

Si se llega a un cáncer avanzado se presentará inflamación de un brazo, dolor óseo, pérdida de peso, y aparición de úlceras cutáneas (14).

## DIAGNÓSTICO

En primer lugar se debe llevar a cabo la anamnesis que es importante para identificar los pacientes que pueden presentar cáncer. En el caso de cáncer de seno hereditario, se debe realizar un estudio cuidadoso de la historia familiar y se debe observar si las lesiones que se presentan son bilaterales como suele presentarse en los cánceres hereditarios. (15)

Posteriormente se realiza la exploración física en la que se puede observar la presencia de tumoraciones arriba o debajo de la clavícula o en la axila, aspecto y coloración del pezón y de la piel subyacente (15).

Si en el examen físico se sospecha un cáncer, debe ordenarse una mamografía o cualquier otra técnica de diagnóstico (15).

## Mamografía

Detecta anormalidades en el seno antes de que éstas puedan sentirse. Se recomienda la mamografía anual para mujeres mayores de 40 años. Aquellas mujeres que presentan un patrón hereditario especialmente las que presentan mutaciones en BCRA1 y BCRA2, los controles deben empezar a partir de los 25 años de edad o 5 años antes de la edad a la cual se le fue diagnosticado cáncer de seno a un miembro de la familia (2,16).

La mamografía puede presentar algunos riesgos tales como: falsos positivos que conllevan a biopsias y cirugías innecesarias, pero esos riesgos disminuyen a medida que la mujer es madura (16).

Cuando se observa en el mamograma un área sospechosa, se indica una biopsia para confirmar el resultado (16).

## Ecografía del seno

Junto con la mamografía se han convertido en un recurso valioso para el diagnóstico (17).

Por lo general, se usa en un área específica del seno que se encontró en el mamograma. La ecografía también ayuda a diferenciar entre los quistes y masas sólidas, evitando de esta manera el uso de aguja para extraer líquido (17).

## Ductograma

Es similar a una radiografía y ayuda a encontrar la causa de alguna secreción del pezón. En la abertura del conducto del pezón se coloca un tubo de plástico delgado; una sustancia es inyectada para delinear la forma del conducto y en la radiografía se observará si hay alguna masa dentro del conducto. En caso de que exista alguna secreción, esta será analizada en un examen para determinar si existen células cancerosas (17).

## Imágenes por Resonancia Magnética

Hay tipos especiales de Resonancia Magnética (MR) para el estudio de los cánceres hallados en mamografía.

grafías o en aquellas mujeres que presentan un alto riesgo. Se desconoce si detecta cánceres pequeños (17).

## Biopsia

Es una prueba confirmatoria y existen varios tipos (17):

1. Aspiración con Aguja Fina (FNAB): se utiliza una aguja muy delgada para extraer fluido de la masa. Una ecografía ayuda a guiar la aguja hacia la masa. Un líquido transparente indica que se trata de un quiste benigno. Un líquido sanguinolento o turbio indica un quiste o en raras ocasiones un cáncer. Se extraen pequeños fragmentos de tejido si la masa es sólida. Estos fragmentos serán estudiados para determinar si son cancerosos (17).
2. Biopsia estereotáxica de núcleo: se utiliza una aguja más grande que la que es utilizada en FNAB. Extrae varios fragmentos de tejido (17).
3. Biopsia quirúrgica: se extirpa toda o parte de la masa para analizarla en el microscopio (17).

## TRATAMIENTO

El tipo de tratamiento depende de factores tales como (16):

- Edad
- Estado de salud
- Tamaño y lugar del tumor
- Clase de cáncer

Depende de donde se encuentre y si es invasivo o metastásico. Existen dos tipos de tratamiento: el local y el sistémico (16).

Tratamiento local: remueve o destruye el cáncer en áreas específicas. Lo más común es la cirugía. Las opciones quirúrgicas son la mastectomía, y algunos tratamientos que conservan el seno como mastectomía parcial o lumpectomía (extirpación del tumor y tejido que lo rodea) (16).

Tratamientos sistémicos afectan a las células de todo el cuerpo. Puede ser utilizado antes de una terapia local para reducir un tumor. También se utiliza después

de otros tratamientos para evitar una recaída o que el cáncer se extienda. Entre este tipo de tratamiento se encuentra la quimioterapia y la terapia hormonal (16).

## Radioterapia

Es importante como tratamiento para la conservación del seno. La administración previa de quimioterapia optimiza la tasa de supervivencia (2).

Se indica a mujeres que tienen un alto riesgo de padecer una recurrencia local o regional luego de una mastectomía (2).

Destruye o reduce las células. La radiación es aplicada por fuera del cuerpo o desde materiales radiactivos colocados directamente en el tumor (17).

Los efectos secundarios principales de la radioterapia son inflamación y pesadez en el seno, quemaduras en el área tratada y cansancio. Estos cambios suelen desaparecer en 6 a 12 meses. El seno puede volverse más pequeño y firme después de la radioterapia (17).

## Quimioterapia

Es el uso de medicamentos contra el cáncer y la metástasis. Puede causar efectos secundarios ya que afecta también a las células normales, causando efectos secundarios (17).

La quimioterapia administrada después de la cirugía reduce las probabilidades de reincidencia. También es el principal tratamiento para la metástasis (17).

## Terapia hormonal

Evita el crecimiento, propagación y recurrencia del cáncer de seno. Los estrógenos pueden aumentar el crecimiento de las células cancerígenas del seno en algunas mujeres. Los efectos de los estrógenos en el crecimiento de las células malignas son bloqueados por Tamoxifen. La terapia hormonal es indicada para aquellas mujeres que obtuvieron resultados positivos en el examen para los receptores de estrógenos o de progesterona (18).

La ooforectomía es indicada para mujeres que no han sobrepasado la menopausia, ya que detiene la producción de estrógenos (18).

Administrada antes de la cirugía puede reducir el tumor haciendo más fácil su extirpación (17).

En raras ocasiones, ciertos medicamentos pueden causar leucemia mieloide aguda. Pero es mucho más benéfico tratar el cáncer de seno, además las posibilidades de padecer leucemia mieloide aguda son mínimas (17).

## TERAPIA GÉNICA: NUEVA EXPECTATIVA

La aplicación de la terapia génica como fuente de combate contra el cáncer de seno se centra en la mutación de genes BRCA1 y BRCA2 como causantes de esta patología; utilizando la combinación de nuevas estrategias en procesos de reparación del DNA (19).

La terapia génica toma estos genes, debido a su importancia en la reparación del DNA dañado en la recombinación homóloga, ya que defectos en una secuencia de DNA es reparada cuando se da el intercambio de dichas secciones por otra que cuenta con las mismas características pero poniendo en manifiesto su forma sana (19).

En este momento es que toma importancia el papel que desempeña una enzima denominada poli ADP- ribosa polimerasa (PARP) como componente principal en aquellas células que carecen de genes BRCA1 y BRCA2, donde de cierto modo suple en efecto o acción de estos sobre la reparación del DNA, ya que las células donde se atenúa la acción de la PARP y que son carentes de los genes mencionados se notan rupturas en el DNA (19).

Se observó que la supresión de PARP lentifica el crecimiento tumoral de células carentes de BRCA2, lo cual indica que la deficiencia de estos genes son las que marcan la eliminación de las células causantes de la patología cancerígena (19).

Actualmente se ha comenzado a indagar sobre los efectos de un anticuerpo monoclonal para el tratamiento del cáncer mamario metastásico denominado herceptina (20).

La herceptina es un anticuerpo antiHER2, que retira el HER2 de la superficie de las células y previene la

unión de los factores de crecimiento que promueven la proliferación celular de los tumores. El anticuerpo HER2 también inhibe la duplicación del DNA celular (20).

## CONCLUSIONES

Detrás del llanto de una mujer, se puede esconder la magnitud de un problema genético de BRCA1, BRCA2 y Tp53, los cuales quedan atados frente al daño irreparable del ADN; llevándola a padecer un mal de alcance físico y psicológico, como el cáncer de seno.

La afluencia de nuevas técnicas para el tratamiento de cáncer de mama pone a la vanguardia el tratamiento de patologías, facilitando por medio de la terapia génica una herramienta efectiva de supresión de genes defectuosos que llevan a la manifestación del cáncer de mama.

## REFERENCIAS

1. <http://www.encolombia.com/cancerseno.htm>
2. Hortobagyi Gabriel. Treatment of breast cancer: [http://content.nejm.org/cgi/content/full/339/14/974?hit\\_s=20&where=fulltext&andorexactfulltext=and&searchterm=Breast+cancer&sortspec=Score%2Bdesc%2BDATE\\_SORTDATE%2Bdesc&excludeflag=TWEEK\\_element&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCI](http://content.nejm.org/cgi/content/full/339/14/974?hit_s=20&where=fulltext&andorexactfulltext=and&searchterm=Breast+cancer&sortspec=Score%2Bdesc%2BDATE_SORTDATE%2Bdesc&excludeflag=TWEEK_element&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCI)
3. BREAST CANCER 1 GENE; BRCA1: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=113705>
4. abcmedicus [http://www.abcmedicus.com/articulo/pacientes/1/id/279/pagina/3/manejo\\_cancer\\_seno.html](http://www.abcmedicus.com/articulo/pacientes/1/id/279/pagina/3/manejo_cancer_seno.html)
5. Chirivella G. Isabel. Estudio en la prevalencia de los genes BRCA1 y BRCA2 en mujeres con cáncer de mama menores de 41 años. Universidad de Valencia 2004. [www.tdx.cesca.es/TEISIS\\_UV/AVAILABLE/TDX-0531105-150625/Chirivella](http://www.tdx.cesca.es/TEISIS_UV/AVAILABLE/TDX-0531105-150625/Chirivella)
6. Embl-heidelberg.de Available from: URL: [http://smart.embl-heidelberg.de/smart/do\\_annotation.pl?DOMAIN=RING&BLAST=DUMMY](http://smart.embl-heidelberg.de/smart/do_annotation.pl?DOMAIN=RING&BLAST=DUMMY)
7. Pfam Available from: URL: [http://www.sanger.ac.uk/cgi-bin/Pfam/detailed\\_interaction\\_view.pl?acc=PF00533&partner=PF00533&pdb=1t15](http://www.sanger.ac.uk/cgi-bin/Pfam/detailed_interaction_view.pl?acc=PF00533&partner=PF00533&pdb=1t15)
8. Geneatlas Available from: URL: [www.dsi.univ-paris5.fr/genatlas/fiche.php?symbol=BRCA2#dna](http://www.dsi.univ-paris5.fr/genatlas/fiche.php?symbol=BRCA2#dna)
9. Pfam Available from: URL: [www. BRCA2\Pfam BRCA2.htm](http://www.BRCA2\Pfam BRCA2.htm)
10. Emory University. Cancerquest. <http://cancerquest.org/index.cfm?page=414&lang=spanish>
11. Anneke C, Blackburn D, Jerry J. Knockout and transgenic mice of Trp53: what have we learned about p53 in breast

- cancer?. BioMed Central Ltd. 2002, Abril 18. 4: 101-111. Available online <http://breast-cancer-research.com/content/4/3/101>
12. Asco M, Shami S, Crook T. The p53 pathway in breast cancer. BioMed Central Ltd. 2002, Febrero 12. 4, 70-76. Available online <http://breast-cancer-research.com/content/4/2/070>
  13. Bernd F, Hemminki K, Bermejo J L. TP53-binding protein variants and breast cancer risk: a case-control study. BioMed Central Ltd. 2005, Mayo 6. 7, R502-R505. Available online <http://breast-cancer-research.com/content/7/4/R502>.
  14. Manual Merck (CD-ROM). Versión 2.1 Madrid (Esp). 1.999
  15. Wikipedia.org Available from: URL: [http://es.wikipedia.org/wiki/Diagn%C3%B3stico\\_del\\_c%C3%A1ncer\\_de\\_mama](http://es.wikipedia.org/wiki/Diagn%C3%B3stico_del_c%C3%A1ncer_de_mama)
  16. HealthCare.Breast Cancer. [http://www.stayinginshape.com/3osfcorp/libv\\_espanol/w05s.shtml](http://www.stayinginshape.com/3osfcorp/libv_espanol/w05s.shtml)
  17. Cáncer se Seno. [http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP\\_4x\\_Cncer\\_del\\_seno\\_Resumen.asp](http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP_4x_Cncer_del_seno_Resumen.asp)
  18. The University Hospital of Columbia and Cornell. Otros Tratamientos para el Cáncer del Seno. <http://wo-pub2.med.cornell.edu/cgi-bin/WebObjects/Publica.woa/5/wa/viewHContent?website=nyp+spanish&contentID=4359&wosid=YeQLfKc8U9jRMtXqeQoUcM>
  19. Senosalud: [www.senosalud.org/pacientes/noticiasb.asp](http://www.senosalud.org/pacientes/noticiasb.asp)
  20. Saleh Mansoor, MD. Centro de cáncer de la universidad de Alabama. uab (university alabama, Birmingham). Insight, december 2001; 7.

## ***Vibrio cholerae***

ANGÉLICA V. FLETCHER<sup>1</sup>, IVÁN A. MENDEZ<sup>2</sup>

### **RESUMEN**

La diarrea de causa infecciosa es la enfermedad más común, la primera causa de muerte en niños y la segunda en adultos a nivel mundial. El adquirir la infección depende tanto de la integridad del sistema inmune de cada individuo como de factores ambientales. La diarrea infecciosa por *Vibrio cholerae* es una entidad que refleja las inadecuadas condiciones sanitarias de los países en los que se presenta, con altas tasas de mortalidad por deshidratación cuando no se trata adecuadamente. *Vibrio cholerae* es un bacilo gram negativo que posee en su estructura factores de virulencia que favorecen el desarrollo de la infección, el más importante es la toxina colérica. Los serotipos de mayor importancia son el *Vibrio cholerae* O1 y O139, responsables de las pandemias y epidemias reportadas en la historia de la humanidad. El control y erradicación del cólera depende principalmente del mejoramiento de las condiciones sanitarias.

**Palabras clave:** *Vibrio cholerae*, diarrea, toxina colérica, factores de virulencia, deshidratación.

### **Abstract**

The infectious diarrhea is the most common disease, the first cause of death in children and the second in adults worldwide. To acquire the infection depends on both, the integrity of the immune system of each individual as well as the environmental factors. The infectious diarrhea caused by *Vibrio cholerae* is an entity that reflects the inadequate sanitary conditions of the countries where it arises with high rates of mortality by dehydration when it is not adequately treated. *Vibrio cholerae* is a gram negative rod that has in its structure virulence factors that promote the development of the infection, of which the most important is the cholera toxin. The main serotypes are *Vibrio cholerae* O1 and O139, responsible for the pandemics and epidemics reported on the human history. The control and eradication of the cholera depends mostly on the improvement of the sanitary conditions.

**Keywords:** *Vibrio cholerae*, diarrhea, choleric toxin, virulence factors, dehydration.

Desde la antigüedad, la enfermedad del cólera ha sido descrita, entre otros, por Hipócrates (Siglo IV AC), Celso (Siglo II AC), Areteo (Siglo II) y Sydenham (Siglo XVII). Sin embargo, la primera descripción epidémica documentada, data de 1498 en Malabar por Vasco de Gama, aunque hay evidencia de la existencia de epidemias aun más antiguas en la India. El término cólera se origina del latín *cholera* y del griego κηολε+ que significa "bilis".(1) La epidemia

del cólera no se presentó en Europa antes del Siglo XIX, la primera gran pandemia se originó en la India en 1817 y posteriormente se presentaron más pandemias significativas causando gran morbi-mortalidad. La historia moderna del cólera inició desde entonces, donde Thomas Sydenham fue el primero en distinguir la enfermedad del cólera del estado de ira, por lo cual, propuso el termino *cholera morbus* para la enfermedad (2,3).

---

<sup>1</sup> Estudiante IX Semestre, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá D.C., Colombia.

<sup>2</sup> Docente Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá D.C., Colombia.  
Dirección electrónica para correspondencia: flet09@gmail.com

En Londres, en 1849, el médico John Snow concluyó, tras numerosos estudios, que la transmisión del cólera se hacía a través del agua y comida contaminada. Argumentó que no podía ser aerotransportada porque no afectaba a los pulmones. Sin embargo, su teoría fue ignorada y sólo hasta 1854 sus argumentos fueron comprobados y aceptados, con lo que se redujo la transmisión de la entidad durante la segunda pandemia en Londres. Durante esa misma época, Filippo Pacini publicó sus observaciones del descubrimiento de un bacilo curvo en las heces de víctimas del cólera en Italia. En 1883, Robert Koch hizo el mismo descubrimiento, describiendo el agente causal del cólera, durante la epidemia en Egipto (2,3,4).

El cólera es una enfermedad infecciosa aguda y transmisible que se puede presentar tanto en forma endémica como epidémica y el agente causal es el *Vibrio cholerae* (2).

### ***Vibrio cholerae***

El *Vibrio cholerae* es un bacilo gram negativo, curvo, en forma de coma, que mide de 0,5 a 0,8 µm de diámetro y 2 a 4 µm de longitud (2,7). Perteneció a la familia *Vibrionaceae* y comparte muchas características con la familia *Enterobacteriaceae*. Presenta movilidad activa gracias a un flagelo polar. Es un microorganismo anaerobio facultativo capaz de realizar un metabolismo oxidativo o fermentador (1,2,3,7). Puede crecer en una gran variedad de medios y tolera un rango amplio de temperaturas que oscilan entre los 18 a 37 °C, lo que indica que la temperatura corporal es adecuada para su desarrollo, y su crecimiento se favorece en condiciones alcalinas, tolerando un pH de 10. Los requerimientos nutricionales del microorganismo son sencillos ya que no es halófilico, como la mayoría de las especies patógenas para el ser humano, pero sí puede ser halotolerante e inclusive, su crecimiento se ve estimulado por el cloruro de sodio (2,5).

Se reconocen muchas sero y biovariedades de *Vibrio cholerae* y todas comparten el antígeno flagelar H. De más de 150 serogrupos conocidos de *Vibrio cholerae*, solo los serogrupos O1 y O139 se han encontrado como responsables del cólera clásico y causan tanto cólera epidémico como pandémico. El primero a su vez, según sus características fenotípicas se subdivide en el biotipo El Tor y clásico. La

serovariedad O1 también puede dividirse, basándose en determinantes antigénicos específicos, en Inaba, Ogawa e Hikojima (2,5,6).

El lipopolisacárido (LPS), es un componente integral de la membrana externa de las bacterias gram negativas, formado por tres secciones estructurales: lípido A, la región central del polisacárido y el antígeno O. El antígeno O de *Vibrio cholerae* O1 consiste en un homopolímero de aproximadamente 18 residuos de perosamina que son sustituidos con tetronato. Se encuentra codificado por un grupo de genes *rfb*. La biosíntesis de la región central del polisacárido, se encuentra codificada por genes cromosomales en el locus *waa* (*rfa*), que codifica transferasas específicas y enzimas envueltas en la síntesis de carbohidratos activados; UDP-glucosa y UDP-galactosa, participando con frecuencia en la síntesis de diferentes estructuras de superficie de *Vibrio cholerae*. Las enzimas corresponden a UDP-glucosa-pirofosforilasa, codificada por *galu* y UDP-glucosa-4-epimerasa, codificada por *gale*. La principal diferencia entre *gale* y *galu* se evidencia bajo deficiencia de los mismos; el LPS de las cepas deficientes de *gale* es aparentemente normal, mientras que las cepas deficientes de *galu* tienen alterada la región central del polisacárido y el efecto de esto es una mayor susceptibilidad a detergentes aniónicos y ácidos orgánicos cortos protonados (5,6).

El *Vibrio cholerae* O139 es similar al *Vibrio cholerae* O1 biotipo El Tor, pero no produce lipopolisacárido O1, puesto que no posee todos los genes para elaborar dicho antígeno. Por medio de estudios experimentales, utilizando electroforesis de campo pulsado, se encontró, según los patrones de bandas entre los serogrupos O1 y O139 de *Vibrio cholerae*, que hay una divergencia en la organización genómica que pudo haber surgido del reorganizamiento genético llevado a cabo a través del tiempo en el entorno. Por otro lado, *Vibrio cholerae* elabora un polisacárido capsular mientras que *Vibrio cholerae* O1 no elabora cápsula alguna (7,8).

*Vibrio cholerae* es un habitante natural de ecosistemas acuáticos como riveras y aguas costeras de todo el mundo y se adhiere a superficies tales como plantas, algas largas filamentosas, zooplancton, crustáceos copépodos (con los cuales vive en asociación, tal como *Acartia tonsa* y *Gerris spinolae*) o insectos; lo cual logra por medio de la formación de biofilm. Para acelerar la unión a las superficies acuáticas, *Vibrio*

*cholerae* necesita un flagelo funcional, así como un pili tipo IV hemaglutinina manosa-sensible (6,8).

La formación de biofilm en superficies abióticas por parte de variantes de *Vibrio cholerae* es posible gracias a que estas se encuentran constitutivamente sintetizando un exopolisacárido (VPS). La composición de VPS no ha podido ser dilucidada del todo, sin embargo, se propone que bien, puede estar constituido por N-acetil-D-glucosamina, D-manosa, 6-deoxy-D-galactosa y D-galactosa o por glucosa, galactosa, N-acetil glucosamina, manosa y xilosa. Estos hallazgos y resultados experimentales adicionales, demuestran que alguno de los dos, UDP-glucosa o UDP-galactosa, es necesario para la biosíntesis de VPS. Adicionalmente, la producción de VPS es responsable de la resistencia contra fagos, posiblemente porque el fago no puede penetrar los VPS lo suficiente como para unirse al antígeno O que es el receptor (6).

La formación de biofilm puede ser importante en el ciclo de vida de cepas patógenas de *Vibrio cholerae*, porque estas residen en hábitats acuáticos naturales durante periodos interepidémicos. El hecho de que las bacterias se encuentren organizadas en un biofilm tridimensional en superficies acuáticas, puede proporcionar una ventaja para las mismas, ya que, así se encuentran mejor protegidas contra los agentes bactericidas y hay mayor disponibilidad de nutrientes.

Recientemente se encontró, que la expresión de VPS por *Vibrio cholerae* O1 El Tor, conlleva a un fenotipo de colonias rugosas y que estas células son capaces de formar biofilm sin la necesidad de una cascada reguladora; en contraste a otras cepas de *Vibrio cholerae*. Además, dichas variantes son resistentes a la cloración y son completamente virulentas para el ser humano (6).

## EPIDEMIOLOGÍA

Todas las especies de *Vibrio cholerae* viven y crecen de forma natural en los ríos y mares de todo el mundo. Inclusive, este microorganismo sobrevive mejor en aguas contaminadas, ya que se ha evidenciado que el recuento bacteriano aumenta, en especial en los meses cálidos (temperaturas entre 10°C a 30°C), en donde las aguas tienen una salinidad aumentada. *Vibrio cholerae*, también vive y se replica dentro de crustáceos quitinosos, siendo el consumo de estos

últimos un mecanismo de transmisión de la enfermedad. Sin embargo, los crustáceos no son el único reservorio del bacilo, ya que el hombre, también puede convertirse en un reservorio de gran importancia, cuando la infección cursa como un estado asintomático; esto es de primordial importancia en las zonas donde el cólera es endémico.

Debido a lo anterior, el cólera se propaga por medio del agua o alimentos contaminados. Por otro lado, la transmisión persona a persona es infrecuente, debido a que el inóculo necesario para la infección es elevado. Sin embargo, es importante tener en cuenta que los individuos infectados por *Vibrio cholerae* pueden eliminar los bacilos por las heces durante los primeros días de la enfermedad aguda y por tanto, son focos importantes de nuevas infecciones, aunque el estado de portador no es prolongado. Por lo general, el cólera se produce en lugares con deficientes condiciones sanitarias. Otros factores de riesgo ecológicos determinantes de la enfermedad son el hacinamiento y la alta densidad de población, la temperatura cálida y la humedad relativa. Entre los factores de riesgo personales se encuentran los malos hábitos higiénicos, las migraciones, la edad (donde los más susceptibles son los niños de dos a cinco años), el estado inmunitario y nutricional y el grupo sanguíneo O, que parece ser un factor protector contra la enfermedad. Se ha sugerido también, que los heterocigotos para fibrosis quística pudieran tener una ventaja selectiva de resistencia al cólera. Por lo anterior, aunque no es una regla, se puede decir, que el riesgo de contraer cólera tiene relación directa con la pobreza y la marginalidad (5,7,9).

Las cepas de *Vibrio cholerae* no-O1, no-O139 son reconocidas como agentes causantes de brotes esporádicos y localizados y la diarrea causada por estas cepas, algunas veces se encuentra caracterizada por moco y sangre. A pesar de que carecen del cassette de genes de virulencia, producen otros productos extracelulares, tales como la toxina termoestable Nag-específica, hemolisina termoestable directa, toxina Shiga y una hemaglutinina que permiten que se desarrolle el proceso diarreico. Sin embargo, estas cepas continúan considerándose de poca significancia, ya que se han asociado con enfermedad en un muy bajo porcentaje de pacientes hospitalizados que cursan con diarrea secretora (8).

El cólera, en su forma epidémica, se originó en la India, mas concretamente, en el sur de la península

de Bengala, en el Delta del Ganges; esta zona y el valle de Yang Tse, en la China, han sido los focos de donde la enfermedad se ha diseminado a otras regiones de la tierra (2).

Existen tres rutas principales por las cuales se diseminó el foco de Bengala, rutas que fueron las mismas por las cuales los humanos lograron trasladarse de un continente a otro: una ruta terrestre que toma hacia el norte de la India, Afganistán, Irán, Rusia, Europa y Norteamérica, las otras dos son rutas marítimas; la primera por el Golfo Pérsico, Siria, Asia menor, Turquía y Europa; y la segunda, por el Mar Rojo, Egipto, Norte del África y costas europeas del Mediterráneo (2).

El cólera es una enfermedad que ha cobrado miles de vidas, con una mortalidad substancialmente importante en los países subdesarrollados, especialmente cuando han ocurrido pandemias, lo que ha sucedido en siete ocasiones desde el siglo XIX, debido a los viajes intercontinentales, que se convirtieron en un punto esencial para la diseminación mundial a través de las rutas ya descritas. Se puede reseñar, que la primera pandemia se originó en Jessore, India en 1817, cobrando millones de vidas a través de Asia, Europa y África, cesando 20 años después, en 1837. La primera ocurrencia de cólera en América, data de 1832 cuando se presentó una epidemia en Québec y posteriormente en Nueva York. Se encuentra documentado que durante la década de 1830 se presentaron varias epidemias en Norte y Centro América, además, se ha mencionado la ocurrencia de una epidemia en Cartagena (Colombia) que se expandió por el río Magdalena en 1849. Nada más, en el año 1891, en la India, el cólera causó 600 mil muertes y el año siguiente, fuera de la India se produjeron alrededor de 380 mil decesos (2,5).

Las primeras seis pandemias de cólera, incluyendo la anteriormente descrita, se suscitaron entre 1817 y 1923, causadas principalmente por *Vibrio cholerae* biotipo clásico y originadas en Asia en la mayoría de los casos, generalmente en el subcontinente Indio (2,5,7).

La enfermedad endémica puede ser producida tanto por el biotipo clásico como El Tor; sin embargo, este último presenta una mayor problemática, pues produce un espectro más amplio de manifestaciones clínicas, siendo leves o asintomáticas en un 80%

pero con el agravante de eliminación constante del bacilo, ya que la infección se perpetúa. El cólera es endémico en la India, el sureste de Asia y África, lo cual convierte a estos países en focos de diseminación pues a partir de estos centros, la enfermedad se desplaza a lo largo de las rutas de los navegantes, vías de comercio y de migración de peregrinos (2,7).

Mediante análisis epidemiológicos se ha podido establecer que las cepas de *Vibrio cholerae* O1 pueden sufrir conversión de serotipo entre Ogawa e Inaba lo que indica una relación genética muy estrecha entre los mismos. La importancia de lo anterior radica principalmente en la determinación de comportamientos epidemiológicos (10).

Las cepas de *Vibrio cholerae* clásicas y El Tor están muy relacionadas pero no son directamente derivadas la una de la otra. Se cree, que se derivan de cepas ambientales no toxigénicas parecidas al biotipo El Tor. Se ha identificado una nueva variedad de *Vibrio cholerae* O1 que parece ser un híbrido de los biotipos, clásico y El Tor de pacientes hospitalizados con diarrea aguda en Bangladesh. Se cree que estas cepas existentes en la naturaleza y se asocian a casos esporádicos y presumiblemente a endemias en otras áreas del mundo. Al parecer, estas cepas se generan a partir de varios intercambios genéticos entre linajes bacterianos divergentes. El reconocimiento de esto híbridos, el rastreo de su prevalencia y distribución global, así como la definición del mecanismo involucrado en la generación de las mismas, tiene una importancia tanto evolutiva como epidemiológica, ya que estas cepas pueden representar precursores de otros clones que pueden llevar a una propagación de una pandemia dado que poseen todos los rasgos genéticos necesarios para generar una cepa pandémica de *Vibrio cholerae*. Inclusive, estas cepas pueden también representar recombinantes naturales únicos que podrían ser empleados en la construcción de una vacuna de microorganismos vivos atenuados, desde que tienen una combinación de los atributos de virulencia de ambos biotipos O1, lo que se traduciría en inmunidad de alta cobertura (11).

En Colombia el último caso confirmado de cólera se presentó en 1999 desde entonces, casos sospechosos en la Costa Pacífica han sido descritos pero ninguno confirmado por el laboratorio de referencia del Instituto Nacional de Salud.

## PATOGENIA Y FACTORES DE VIRULENCIA

El riesgo de adquirir una infección gastrointestinal como el cólera, obedece en gran medida, a factores como la edad, las condiciones de vida, especialmente las sanitarias, las fuentes de agua, los hábitos personales y culturales y la exposición grupal (12). Después de haber ingerido el microorganismo, el destino del mismo puede ser, su eliminación inmediata a través de las heces o bien su establecimiento, colonización e infección en el individuo.

Para que el *Vibrio cholerae* pueda producir enfermedad, debe en primera instancia sobrepasar el ambiente ácido gástrico. La habilidad para sobrevivir a dicho medio hostil parece estar ligada a una respuesta adaptativa al ácido, conocida como la respuesta de tolerancia al ácido (ATR). Así se ha identificado en estudios realizados en ratones que las bacterias *Vibrio cholerae* adaptadas a pesar de que no tienen una supervivencia aumentada durante el pasaje por el estómago como se creía anteriormente, si parecen aumentar la supervivencia en estadios posteriores de la infección y también permite que la replicación inicie de una manera mas temprana y rápida (13).

Normalmente, para que se dé el cólera, se debe ingerir un inóculo de  $10^8$  a  $10^{10}$  microorganismos, bien sea en alimentos o en agua contaminada; sin embargo, existen factores predisponentes como el empleo de antiácidos o bloqueadores H<sub>2</sub>, la hipo o aclorhidria, gastritis crónica inducida por *Helicobacter pylori*, la gastrectomía parcial, entre otros, que favorecen la infección por cuanto disminuyen la acidez gástrica haciendo que la dosis necesaria para ocasionar la enfermedad sea tan baja como de  $10^3$  a  $10^5$  microorganismos. El pH ácido, inferior a 2.4 es vibriocida (2,3,5,7).

Después de que se supera la primera barrera natural, las bacterias alcanzan el intestino delgado y colonizan, aunque en este punto, los bacilos también se encuentran expuestos a la inmunidad entérica que depende de elementos fagocíticos, humorales y celulares. Cada uno de estos componentes desempeña un papel específico en la resistencia del huésped; en la lámina propia de la mucosa intestinal, se encuentran numerosos neutrófilos, macrófagos, células plasmáticas y linfocitos que constantemente combaten las agresiones lumenares a fin de preservar la integridad

de la mucosa. Por otro lado, la inmunidad intestinal humoral activa específica, es consecuencia de inmunoglobulinas séricas como IgG e IgM o de la formación de IgA secretoria por las células plasmáticas localizadas principalmente en la lámina propia, donde el efecto es la neutralización, opsonización y activación del complemento para combatir los microorganismos. Además, los vibriones son atacados por componentes antimicrobianos de la respuesta innata del sistema inmune, tal como las defensinas producidas por las células de Paneth. La resistencia por parte de *Vibrio cholerae* a estos bactericidas está dada por las estructuras del LPS, como la región central del polisacárido y el antígeno O; proporcionan resistencia contra la acción perturbadora sobre la membrana externa por parte de los péptidos catiónicos (dependiente de varios factores, como la carga de las moléculas de LPS o la concentración del mismo en la membrana) y resistencia al sistema del complemento respectivamente, aunque para este último efecto se ha comprobado que también es necesario que la región central del polisacárido se encuentre intacta. De esta manera, el microorganismo se mantiene viable y gracias al ambiente alcalino del intestino se facilita su supervivencia y multiplicación. Es entonces, cuando los microorganismos inician la producción de enterotoxina y en algunas cepas de *Vibrio cholerae* El Tor, una citotoxina, por medio de las cuales el cólera ocasiona un proceso diarreico agudo de carácter secretor (2,5,6,12).

La citotoxina liberada por ciertas cepas de El Tor, muestra semejanza tanto estructural como funcional a la producida por *Shigella spp.* Esta, es la responsable de algunas de las manifestaciones, poco frecuentes del cólera, como son la presencia de moco y sangre abundante en las heces (2).

La enterotoxina colérica (CTX) es el factor de virulencia más importante y mejor estudiado de todos, fue purificada por Finkelstein y LoSpalluto en 1969. Es una proteína heterodimérica termolábil parecida a la enterotoxina de *Escherichia coli* y posee un peso molecular de casi 84000 Da. Consta de una única subunidad A, enzimáticamente activa (con dos porciones; A1 y A2) asociada no covalentemente con cinco subunidades B. El lípido gangliósido GM1 de la mucosa intestinal, sirve como receptor de la subunidad B de la enterotoxina. Esta interacción facilita la internalización de la subunidad A al enterocito, la cual, por medio de su porción activa A1 produce la activación de la adenilatociclasa, lo que se traduce

en el incremento de los niveles intracelulares de adenosín 3'5' monofosfato cíclico (AMPc) con la consecuente acumulación del mismo a lo largo de la membrana celular del eritrocito. El AMPc produce la secreción activa de agua y electrolitos como el sodio (Na<sup>+</sup>), el cloro (Cl<sup>-</sup>) –secreción dependiente de sodio-, el potasio (K<sup>+</sup>) y el bicarbonato (HCO<sub>3</sub>), desde la célula hasta la luz intestinal; una típica diarrea aguda de tipo secretor. Además de la secreción, se inhibe también la absorción de agua, sodio y cloro, lo que complica aun más la pérdida hidroelectrolítica. Todo esto sucede en el intestino delgado, principalmente a nivel del duodeno y yeyuno. El colon también toma parte en el proceso secretando potasio y bicarbonato adicional y fallando en la absorción de las secreciones aumentadas del intestino delgado (2,3,5,7,12,14).

La enterotoxina del *Vibrio cholerae* se encuentra codificada por genes bacterianos cromosómicos, que codifican para las dos subunidades y son el ctxa y el ctxb. Los genes para las subunidades A y B de la toxina del cólera están contenidos en un operón dentro de un bacteriófago filamentoso que lisogeniza a *Vibrio cholerae*; el fago CTX $\phi$  transmisible. En las cepas clásicas de *Vibrio cholerae*, la expresión de la toxina colérica *in vitro* esta fuertemente regulada por condiciones ambientales de crecimiento, tales como pH, temperatura y osmolaridad (5,14,15).

Debido a todo este proceso, aparece la diarrea que puede llegar a ser muy grave en pacientes con infecciones severas, con pérdidas de 1L/h o 20 a 30 L/d, con la resultante deshidratación que debe ser tratada de manera temprana y eficaz o de lo contrario el cuadro clínico puede progresar a choque hipovolémico, acidosis metabólica, caída del potasio intracelular y finalmente la muerte (2,5,7).

Si se compara el plasma con las heces, se puede observar que en éstas, la concentración de NaCl es ligeramente inferior, la de bicarbonato 2 veces mayor y la de potasio esta 1 a 5 veces por encima de la plasmática (2).

La respuesta del organismo al contexto clínico del cólera es la producción de anticuerpos neutralizantes, debido a la estimulación derivada de la enterotoxina; se ha podido establecer, que un ataque de cólera va seguido de inmunidad a la reinfección aunque se desconoce la duración y el grado de inmunidad producido. En experimentos hechos en animales, se ha identificado la aparición de anticuerpos IgA espe-

cíficos en la luz del intestino. Además, anticuerpos séricos similares, se desarrollan después de la infección, pero duran tan solo unos cuantos meses. Se ha determinado que los títulos mayores o iguales a 1:20 de anticuerpos vibriocidas en suero indican protección contra la colonización y la enfermedad (7).

Se ha reportado también, que se producen anticuerpos anti-MSHA (Hemaglutinina Manosa-Sensible) en el suero o en las heces después de la infección por cólera y que la mayor parte de la respuesta inmune anti-toxina del cólera va dirigida contra la subunidad B no tóxica. Aunque, tras una infección por cólera los niveles de anticuerpos séricos anti-CTX y anti-CTXB incrementan substancialmente, no se ha demostrado que esta respuesta confiera inmunidad protectora y muy probablemente, para que se desarrolle esta respuesta inmune se requiere una exposición intestinal repetida (16).

Por mucho tiempo, el paradigma clásico del cólera era considerarlo como una diarrea toxigénica no inflamatoria, hasta que estudios ultraestructurales mostraron que en realidad, células inflamatorias tales como polimorfonucleares (PMN), eosinófilos y células mastocíticas se encontraban incrementadas en infecciones por *Vibrio cholerae* O1 en la fase aguda de la enfermedad en el intestino. La respuesta inmune innata revela un incremento de la secreción de mediadores inflamatorios con propiedades bactericidas, bacteriostáticas y de inmunorregulación. Estos incrementos son identificables tanto en heces, como en intestino e inclusive en la circulación sistémica. Por ejemplo, es posible observar el aumento de los niveles de proteínas de fase aguda proteína c reactiva (CRP), que normalmente aumentan rápidamente bajo un estímulo inflamatorio (17).

Las infecciones mediadas por CTX inducen una respuesta de citoquinas tipo Th2, reflejada por la producción de inmunoglobulinas específicas IgG1, IgG4 y anticuerpos IgE, así como interleuquina (IL-6) producida por células mastocíticas. Se ha demostrado también, que los niveles de un agente altamente antimicrobiano como el óxido nítrico (NO<sup>-</sup>) aumentan a nivel plasmático en la infección por *Vibrio cholerae* O1, así como la actividad óxido nítrico sintetasa (iNOS) en la mucosa. Los metabolitos del óxido nítrico son necesarios ya que brindan protección al intestino matando las bacterias. Además, el incremento del NO puede resultar en potenciación de la peristalsis en el intestino, debido a sus efectos en el

músculo liso y en las neuronas. De manera interesante, la CTX puede estimular la expresión génica de iNOS en el intestino. Adicionalmente, es posible que a partir de este metabolito, se de la formación de peroxinitrito tóxico, el cual, también puede estar involucrado en las actividades bactericidas en el intestino y por lo tanto ayude en la recuperación de la enfermedad (17). El aumento de las secreciones intestinales es una respuesta protectora del huésped a infecciones entéricas que pueden estar mediadas por prostaglandinas como la PGE<sub>2</sub> que muestra incremento en los pacientes con cólera y participa en la resolución de la enfermedad, debido a que tiene un efecto anti-inflamatorio e inmunorregulador. También se encuentran elevadas proteínas bactericidas como lactoferrina (con propiedades bactericidas definidas para *Vibrio cholerae* O1), mieloperoxidasa y  $\alpha$ -defensina que resaltan el rol funcional de los PMN. Además, los niveles de superóxido dismutasa (SOD) aumentan concomitantemente con los niveles de 8-iso-prostaglandina F2 (17,18).

Es importante tener en cuenta que a pesar de que la colonización se da a nivel del intestino delgado como se describió anteriormente, se han visto cambios morfológicos en tejido rectal distal lo que se basa en la noción de “un sistema mucosal inmune común”; por lo que el daño mediado por la respuesta inflamatoria inmune descrita, no solo se ve a nivel del depósito de antígenos sino en lugares remotos de la mucosa (18).

A pesar del gran impacto y la importancia que tiene la toxina para el desarrollo de la fisiopatología del cólera, ésta no es la única que contribuye a la enfermedad, por el contrario, existen varios factores virulencia implicados en el proceso, que hacen sinergismo y agudizan el cuadro clínico del paciente (5).

Un segundo factor de virulencia mayor de *Vibrio cholerae* es el pilus corregulado por la toxina (TCP), esencial para la colonización y la virulencia de las cepas. La mayor subunidad estructural, TCPA de 20,5-kDa, tiene homología al pili tipo IV de otras varias especies patógenas. Además, el TCPA de El Tor y de la cepa clásica de *Vibrio cholerae* muestran alrededor de 80% de homología en la proteína, no obstante, los anticuerpos monoclonales demuestran epítopes diferentes entre estas proteínas para los dos biotipos y se ha descrito que difieren inmunológicamente (16). Se ha documentado que existen otros genes envueltos en la biosíntesis, procesamiento y

ensamblaje de TCPA dentro de la estructura del pili madura y que se encuentran localizados corriente abajo de TCPA en el cromosoma de *Vibrio cholerae*. Recientemente, se ha encontrado que estos y genes adyacentes se encuentran localizados en una isla de patogenicidad de *Vibrio cholerae* dentro de otro bacteriófago filamentoso, designado VPIf (14).

El VIP $\phi$  es de gran tamaño (aproximadamente 40 kilobases) y contiene genes asociados con virulencia, regulación y movilidad, insertados dentro de un único sitio en el cromosomas adyacente a genes tRNA, y tiene un contenido diferente de G+C comparado con el cromosoma huésped (19).

Las bacterias no patógenas, pueden convertirse en patógenas. Muchos patógenos bacterianos contienen grupos de genes que codifican factores de virulencia responsables de inducir enfermedad. Los grupos grandes de genes esenciales para las propiedades epidémicas de *Vibrio cholerae* originados de DNA viral que se incorpora al cromosoma bacteriano y la transferencia de VIP $\phi$  confiere nueva virulencia al receptor. Sin embargo, se ha establecido, que no todas las cepas de *Vibrio cholerae* pueden actuar como donadores o receptores de VIP $\phi$  (19).

El complejo génico del pilus corregulado por la toxina (*tcp*) y los genes del factor de colonización accesoria (*acf*) son factores importantes para la infección, ya que median la adherencia del *Vibrio cholerae* a la mucosa intestinal y por tanto no permiten que el bacilo sea eliminado del intestino a pesar del gran flujo acuoso que fluye por el intestino, a raíz de la diarrea secretora. Tal es la importancia de estas moléculas mediadoras de adhesión, que se ha establecido que las cepas no adherentes, son incapaces de causar infección en el hombre (5). El TCP, no solo media la adherencia a la mucosa intestinal, sino que adicionalmente media la adherencia interbacterial, así, la interacción VPIf/pili TCP puede contribuir a la colonización sirviendo como un puente entre fago/pili para la unión a otras bacterias. Además, el TCP también es receptor de CTXf, creando así una situación, en la que un fago sirve como receptor de un segundo fago en un proceso secuencial de infección que resulta en virulencia bacteriana (19).

El genoma de *Vibrio cholerae* también codifica otros dos pili tipo IV; la MSHA y PILA (con su secretina de membrana externa, PILQ). MSHA es un pili flexible y delgado, compuesto por una subunidad de 17-kDa.

Por medio de experimentos en humanos voluntarios, se ha demostrado que si se suprime a una cepa de *Vibrio cholerae* de MSHA, se conduce a defectos en la colonización. Por el contrario, una delección de PILA no tiene efecto en la colonización de ratones infantiles, y por tanto su papel en la infección humana no ha podido ser dilucidado (16).

Adicionalmente, se ha descrito un grupo de cuatro genes, *pilabcd*, que codifican un tercer pili tipo IV (16).

Por medio de nuevas técnicas como RIVET (Recombinase *in vivo* Expresión Technology) se han identificado un gran número de genes adicionales en *Vibrio cholerae* que específicamente se expresan durante la infección en ratones infantiles. Entre estos grupos de genes se incluye una proteína quimiotáctica aceptadora de metilos y *viesab*, que codifica para un sensor de quinasa y dos proteínas reguladoras de distinta respuesta. También, se han descrito otros genes como *capk* (involucrado en la síntesis de biofilm asociado a exopolisacárido), *rtxb* (que codifica al gen transportador para la toxina RTX de *Vibrio cholerae* El Tor), *mfrha* (hemaglutinina manosa/mucosa resistente) y otros genes que son importantes en la regulación de la colonización en ratones. Adicionalmente, por medio de marcadores de mutagénesis se han reconocido otros genes importantes necesarios para la colonización y el crecimiento de *Vibrio cholerae* en ratones infantiles, donde se encuentran genes del grupo *tcp*, *pta*, *ptla* y genes envueltos en la biosíntesis de purinas (16).

A pesar de que las técnicas descritas anteriormente han permitido la identificación de muchos elementos importantes del microorganismo, existe la limitación de que los dos sistemas (RIVAT y marcador de mutagénesis) requieren un modelo animal que imite la infección humana. Esto acarrea un problema, ya que, el único hospedero natural de *Vibrio cholerae* es el hombre y por lo tanto, la determinación de genes expresados durante la infección en modelos animales puede no identificar genes exclusivos, que se requieran únicamente para la infección en humanos. Por este motivo, se ha creado una nueva técnica que evita esta limitación; IVIAT (In Vivo-Induced Antigen Technology) permite la identificación directa de las proteínas microbianas expresadas en niveles suficientes para ser inmunogénicas durante la infección humana. A través de esta técnica, se describieron varios genes no identificados anteriormente como *msho*, *mshp*, *chea*, *cher*, *luxp* (proteína periplasmática; que es un

componente de uno de los tres sistemas sensores de quórum recientemente descritos) y cuatro ORFs hipotéticos.

De estos últimos cuatro ORFs, tres (VCA0536, VCA0884 y VCA0931) al parecer codifican proteínas citoplasmáticas y se encuentran en el brazo corto del cromosoma II de *Vibrio cholerae* y el ORF restante (VC1431) tiene un péptido señal y una porción homóloga a un sensor transductor bacteriano de quimiotaxis. Algo interesante es que el cromosoma II contiene relativamente pocos genes requeridos para el crecimiento de *Vibrio cholerae* en los medios de laboratorio, pero contienen muchos genes necesarios para la adaptación y crecimiento del mismo en ambientes únicos. El hecho de que tres de los cuatro ORFs identificados por IVIAT sean codificados en el cromosoma II, plantea la posibilidad de que estos genes puedan codificar funciones específicas requeridas para el crecimiento y desarrollo de *Vibrio cholerae* en el intestino humano (16).

Las variantes “no toxigénicas” de *Vibrio cholerae* que no cargan el profago CTXf+ integrado también pueden causar enfermedad, ya que por medio de estudios epidemiológicos se han identificado cepas de *Vibrio cholerae* no-O1 y no-O139 que producen una enterotoxina que es antigénicamente identificable, como una nueva toxina colérica causante de enfermedad (8). Se presentan así episodios esporádicos de diarrea acuosa, infecciones extraintestinales, septicemia e inflamación enterocolítica (15).

La lactoferrina, es un marcador fisiológico, de la presencia de neutrófilos y ha sido demostrada la presencia de altos niveles de la misma en heces de humanos voluntarios a los cuales se les ha administrado las cepas de *Vibrio cholerae* ctx deficientes, comparados con voluntarios a los cuales se les administró cepas de control productoras de toxina colérica. Estos resultados sugieren que el mecanismo de los dos tipos de cepas de *Vibrio cholerae* es diferente, ya que las cepas de *Vibrio cholerae* que no producen toxina colérica inducen una diarrea inflamatoria, más que una enfermedad poco inflamatoria asociada a las cepas productoras de CTX. El desarrollo de una diarrea inflamatoria en la ausencia de CTX puede deberse a la pérdida de las señales inmunomoduladoras por parte de CTX. *In vitro*, se ha encontrado que CTX bloquea la producción de citoquinas proinflamatorias como TNF $\alpha$ , IL-1e IL-12 producidas por monocitos y células dendríticas estimulados por el LPS (15,17).

Estudios *in vitro* han identificado otros factores citotóxicos a parte de *ctx* secretados por *Vibrio cholerae* que son capaces de causar daño del tejido, y que además, pueden contribuir a la inducción de la respuesta proinflamatoria. Estas "toxinas accesorias" de *Vibrio cholerae* incluyen la toxina RTX (repeats-in-toxin), la cual causa redondeamiento celular e incremento de la permeabilidad a través de las uniones estrechas paracelulares debido a la depolimerización de las fibras de actina; hemaglutinina/proteasa (HAP), que es la responsable de producir la diarrea leve o moderada. El mecanismo de acción de HAP (mucinasasa) puede dividirse en dos partes; una es la estimulación por parte de este gen para que se produzca IL8 y en segundo lugar, se da una degradación de las uniones estrechas de la mucosa intestinal. Estos dos procesos, conllevan a una inflamación y una diarrea pero que en este caso, sería de carácter osmótica debido a la no absorción. Se encuentra codificada por el gen de hemaglutinación-proteasa (*hapa*). Finalmente, la hemolisina (codificada por el gen *hly* presente en todas las cepas, que puede o no expresarse y de eso dependerá que la cepa sea hemolítica o no), causa necrosis de las células epiteliales intestinales, crecimiento de vacuolas ligeramente ácidas, y hemólisis dependiente del tipo de célula y la concentración de la toxina. Se ha descrito, que la hemolisina no juega un papel en el inicio de la respuesta secretora (5,8,15).

Además de los factores de virulencia ya mencionados, el *Vibrio cholerae* posee una neuraminidasa que aumenta los receptores de la toxina y con ello hace que la evolución de la enfermedad se desarrolle de una manera mucho más rápida. También cuenta con sideróforos, los cuales son importantes para el secuestro del hierro (5).

Todos estos factores de virulencia se encuentran en genes cromosómicos y adicionalmente, se encuentran regulados por una serie de genes reguladores que controlan su expresión. Entre estos genes reguladores se encuentra *toxR*, que específicamente controla la expresión de la toxina colérica y TCP, por medio de la codificación de una proteína transmembranal con un dominio citoplasmático de DNA de unión amino-terminal que actúa como un activador transcripcional. Un segundo gen regulador es *toxS*, que es transcrito en un operón junto con *toxR* y codifica una proteína periplasmática que facilita la dimerización y activación de TOXR como una proteína ligadora de DNA. Sin embargo, *toxR* no es capaz de activar

la transcripción del promotor de *ctxab* o *tcpa* directamente en *Vibrio cholerae*. Por el contrario, TOXR activa la transcripción de un gen regulador adicional, *toxT*, que codifica un activador transcripcional en la familia *arac*. Posteriormente *toxT* activa directamente la transcripción en los promotores de *tcpa* y *ctxab*, así como otros genes que hacen parte del regulón *toxR*, siendo todo una cascada de eventos. El gen que codifica TOXT está localizado en el grupo de genes *tcp* corriente abajo de *tcpa*, entre *tcpf* y *tcpj*. En la cepa clásica de *Vibrio cholerae* hay varias secuencias repetidas corriente arriba del promotor de *toxT*, y estas repeticiones han mostrado ser necesarias para la unión de TOXR y la activación de la transcripción del gen *toxT*. Investigadores han identificado genes adicionales corriente arriba de *tcpa*, que incluyen *tcpP* y *tcpH* los cuales potencian la expresión de *toxT*. Experimentalmente se ha demostrado que existe poca diferencia con respecto a la actividad de las proteínas TCP P y TCP H en los dos biotipos (clásico y El Tor) cuando se encuentran bajo condiciones del biotipo clásico (5,14).

La producción de la toxina del cólera y TCP esta regulada de manera diferente entre los dos biotipos de *Vibrio cholerae* O1. Las cepas clásicas de *Vibrio cholerae* expresan los factores de virulencia bajo condiciones inductoras de *toxR* y condiciones AKI (condiciones de crecimiento muy limitadas), mientras que las cepas Tor expresan niveles detectables solo bajo condiciones AKI *in vitro*. *ToxR* es requerido en ambos biotipos para la expresión de los factores de virulencia, aunque la expresión de *toxR* es independiente de las condiciones ambientales de crecimiento. *toxT* también es necesario para la expresión de los factores de virulencia en los dos biotipos, y la expresión de *toxT*, en respuesta a condiciones ambientales, difiere entre los dos biotipos, siendo favorables ambas condiciones (AKI e inductoras de *toxR*) para las cepas clásicas y solamente las condiciones AKI para El Tor. Sin embargo, la expresión de *toxT* a partir de un promotor inducible, hace innecesarias las condiciones AKI en el biotipo El Tor, para que se genere la toxina del cólera y TCP. Estas diferencias en el control de la producción de la toxina del cólera por parte de los dos biotipos, pueden contribuir a las diferencias en su patogenicidad (14).

Por otro lado, la transcripción de *toxT* en las cepas clásicas requiere *tcpH* y la transcripción del operón de *tcpH* esta regulada por el pH y la temperatura en *Vibrio cholerae* clásico. Esto hallazgo sugieren que

*tcp* y *tcph* pueden aparear las señales ambientales de temperatura y pH a la transcripción de *toxt* y expresión del regulón *toxR* en las cepas clásicas de *Vibrio cholerae*. En las cepas clásicas de *Vibrio cholerae*, tanto *tcp* como *tcph*, en coordinación con *toxR* y *toxe*, se requieren para la activación óptima de la transcripción del promotor *toxt* (14).

Recientemente, una proteína designada *apha*, fue encontrada ser requerida para activar la expresión de *tcp* en el biotipo clásico, aunque los mecanismos de esta activación son desconocidos. La expresión de *apha* no parece estar influenciada por condiciones ambientales. Todavía no se ha establecido si *apha* juega un papel en la expresión diferencial de *tcp* entre los biotipos clásicos y El Tor. Un modelo de la regulación de la expresión génica de factores de virulencia de *Vibrio cholerae* se revisa ampliamente en el trabajo de Murley y Carrol (14).

## MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El periodo de incubación de la enfermedad es variable y oscila entre seis horas y seis días. En promedio, transcurren 2 o 3 días entre la entrada de la bacteria al organismo y el inicio de las manifestaciones en los cuadros sintomáticos, ya que se puede presentar una colonización asintomática. El *Vibrio cholera* clásico muestra una proporción aproximada de 4 casos asintomáticos por 1 sintomático, mientras que el *Vibrio cholera* El Tor alrededor de 10:1 o más (2,5,12).

Es importante tener en cuenta que el cólera no es una enfermedad invasora; los microorganismos no alcanzan el torrente circulatorio, sino que se limitan a causar la patología en el intestino. Los bacilos virulentos se unen a las microvellosidades del borde en cepillo de las células epiteliales, donde se multiplican y liberan las toxinas coléricas ya descritas, mucinasas y endotoxinas que dan comienzo a la sintomatología. Se da un inicio súbito de diarrea acuosa y emesis. El cuadro clínico se va haciendo cada vez más agudo y conforme hay pérdida de líquido, las heces se van volviendo inodoras e incoloras, libres de proteínas, con células epiteliales, gran número de vibriones y con puntos de moco, las cuales se describen comúnmente con el nombre de heces en agua de arroz (2,5,7).

Como se describió ya anteriormente en este artículo, el cólera es una enfermedad que causa grados impor-

tantes de deshidratación, especialmente cuando no se trata pronta y adecuadamente. Aparte de la pérdida de agua, se pierden también cantidades importantes de electrolitos lo cual puede ocasionar un desorden hidroelectrolítico que al principio se presenta asintomático pero que posteriormente desarrolla clínica característica. En este momento se hacen evidentes los signos clásicos de deshidratación progresando desde polidipsia, pliegues cutáneos positivos y depresión ocular hasta que con el tiempo, aparecen calambres, principalmente de las extremidades. Los músculos afectados muestran una rigidez extrema, debido al agotamiento de cloruros y potasio, que afecta la función neuromuscular (2).

El cuadro clínico puede empeorar cada vez más y se puede observar, cómo la temperatura superficial, se encuentra varios grados por debajo de lo normal (34°C) mientras que la temperatura rectal puede estar elevada (39°C). El paciente empieza a mostrar oliguria y posteriormente un estado de anuria absoluto, que puede estar acompañado de congestión de las membranas mucosas y conjuntivas, rubor malar y delirio; todo conforme avanza la deshidratación. Se presenta taquipnea con respiraciones muy profundas, debilidad generalizada, pulso filiforme, que desaparece a intervalos. Puede haber hipotensión y en casos graves la tensión arterial puede llegar a ser irregistrable. En estos casos el paciente puede ingresar a un estado de acidosis metabólica severa, hipocalemia severa y shock hipovolémico con arritmias cardíacas y falla renal (12).

Es posible que sobrevenga la muerte entre 2 y 30 horas después del comienzo de los síntomas, en los pacientes que no son rehidratados, con un promedio de 10 a 12 horas y con una tasa de mortalidad del 60%. La tasa de mortalidad de los pacientes rehidratados con líquidos y electrolitos es menor a un 1%. Por lo cual esta es la base del tratamiento (2,3).

El periodo de recuperación empieza a evidenciarse con el retorno del pulso, la ausencia de emesis y disminución de la diarrea, el incremento de la tensión arterial y el registro de un adecuado gasto urinario. Esporádicamente, se presenta la reacción hipertérmica o "cólera tifoidea", donde la temperatura axilar se eleva a 41.7°C y la rectal a 42.8°C; esta condición es invariablemente fatal (2).

La enfermedad causada por *Vibrio cholerae* O139 es muy similar en evolución y gravedad a la producida

por *Vibrio cholerae* O1, por el contrario, la gastroenteritis producida por otras cepas de *Vibrio cholerae* tiende a ser mas leve (5).

## DIAGNÓSTICO

El diagnóstico rápido del cólera, es clave para dar inicio a terapias efectivas y para instituir medidas epidemiológicas apropiadas evitando la propagación y complicación de la enfermedad.

El diagnóstico del *Vibrio cholerae* puede realizarse observando los bacilos móviles en muestras de heces (especialmente en el moco) directamente, mediante un microscopio de campo oscuro. No se recomienda realizar tinción de Gram, ya que no se suelen observarse los microorganismos provenientes de materia fecal o heridas por esta técnica (5,7).

Para realizar un cultivo, las muestras deben tomarse al inicio de la enfermedad e inocularse rápidamente en los medios específicos. Los vibrios crecen en la mayoría de los medios de cultivo que se utilizan para los coprocultivos, donde se incluyen el agar sangre y el agar MacConkey. Sin embargo, también existen caldos enriquecidos como el medio alcalino enriquecido con agua de peptona (pH 8.6) y medios especiales, que son selectivos para los vibrios, entre los cuales se encuentra el agar de tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa (TCBS) el cual produce colonias de color amarillo. Se requieren alrededor de diez y ocho horas de cultivo para observar las colonias típicas; colonias convexas lisas, redondas, opacas, granulares con luz transmitida y de color amarillo (5,7,20).

A diferencia del biotipo clásico, que no es hemolítico, las cepas del biotipo El Tor producen y secretan una hemolisina en el medio de cultivo. Este principio ha sido utilizado para distinguir los dos biotipos. Sin embargo, la actividad hemolítica no siempre se correlaciona con el biotipo El Tor y muchas de las cepas El Tor han sido reportadas como no productoras de hemolisina (8).

Adicionalmente, debido a que el *Vibrio cholerae* es un bacilo gram negativo, se le pueden realizar pruebas bioquímicas selectivas, que permiten establecer características especiales de la bacteria. Específicamente, el *Vibrio cholerae* fermenta la sacarosa y la manosa pero no la arabinosa. Los vibriones son oxidasa-positivos, lo cual los diferencia de bacterias entericas gram

negativas que crecen sobre agar Sangre. Además, las especies de *Vibrio cholerae* son susceptibles al compuesto O/129 (fosfato de 2,4-diamino- 6,7 diisopropil-pteridina), lo que ayuda a diferenciarlas de especies de *Aeromonas*; por el contrario resistentes a esta sustancia (5,7).

De la misma forma, es posible identificar el *Vibrio cholerae* por medio de pruebas serológicas. En 1930 se reconoció que la gran mayoría de los vibrios aislados de casos de cólera aglutinaban con un solo antisuero, y por tanto, hoy en día es posible establecer el serotipo, utilizando el antisuero polivalente O1 de *Vibrio cholerae*, mediante pruebas de aglutinación en laminilla. Actualmente, con base en la prueba de aglutinación, se aceptan dos serogrupos de *Vibrio cholerae*; serogrupo O1 y serogrupo no O1. Para la sub-tipificación se emplean antisueros anti-Inaba y anti-Ogawa (1,12,21).

Así mismo, pueden realizarse pruebas para identificar las especies halófilicas, para lo cual, el medio se debe suplementar con cloruro sódico al 1% (5).

Es necesario tener en cuenta las condiciones que dificultan el crecimiento del microorganismo, como los son, un ambiente ácido y seco. Además, es importante tener en cuenta que si el estudio del microorganismo va a tomar un tiempo, o debe ser transportado, es necesario mezclar la muestra con el medio de transporte de Cary-Blair y refrigerarse, y no utilizar el tampón de glicerol salino, que es utilizado como medio de transporte de la mayoría de los patógenos entéricos, debido a que *Vibrio cholerae* a diferencia de los demás microorganismos no sobrevive bien en ese medio (7). En estudios recientes, se ha demostrado, que las muestras aisladas de ecosistemas de agua fresca a temperatura ambiente que oscile entre 31°C y 35°C por un período de 20 horas no tiene efectos deletéreos sobre la muestra como se pensaba anteriormente, por el contrario facilita el crecimiento bacteriano. Sugiriendo así, que basados en un protocolo similar podría mejorarse el aislamiento de *Vibrio cholerae* de muestras ambientales (22).

Varias pruebas diagnósticas rápidas para el cólera han sido descritas. Algunas detectan la toxina del cólera mientras que otras detectan el antígeno LPS de *Vibrio cholerae* O1. Se ha desarrollado un inmunoensayo SMART (Multistep Colloidal Gold-based Colorimetric Immunoassay) para la detección directa de *Vibrio cholerae* O1 o *Vibrio cholerae* O139 en

especímenes de materia fecal y han demostrado 95% de sensibilidad y 100% de especificidad para las cepas O1 y 100% de sensibilidad y 97% de especificidad para las cepas O139 (23).

Se han desarrollado también estudios que se dirigen a detectar la actividad lysyl aminopeptidasa presente en la isomerasa de fosfoglucoasa producida por miembros de la familia *Vibrionaceae*. Aunque estas pruebas abarcan otros patógenos han demostrado una actividad fuertemente positiva por parte de las cepas O1, O139, O22 y O155 de *Vibrio cholerae*. El "Colony Overlay Procedure for Peptidases (COPP)" es una prueba que permite una detección fluorogénica rápida, simple y poco costosa de miembros de la familia *Vibrionaceae* en la comida, el ambiente y muestras clínicas que aunque no de elección es una herramienta diagnóstica que puede ayudar a enfocar la etiología de la enfermedad diarreica aguda (24).

Recientemente, investigadores en el Instituto Pasteur, Paris, Francia desarrollaron una prueba de un paso con un indicador inmunocromatográfico para la detección rápida de *Vibrio cholerae* O1 y O139 de muestras de materia fecal utilizando partículas de oro. Los umbrales de detección con LPS purificado son de 10ng/ml para *Vibrio cholerae* O1 y 50ng/ml para *Vibrio cholerae* O139. El método del indicador requiere aptitudes técnicas mínimas y la prueba puede ser leída en aproximadamente 10 minutos. Un resultado positivo aparece como dos líneas rosadas y un resultado negativo como una única línea rosada superior, correspondiente a la línea control. Adicionalmente, los indicadores pueden ser guardados a temperatura ambiente en una bolsa a prueba de humedad, haciéndolos fáciles de transportar. La sensibilidad y especificidad de los indicadores para la detección de *Vibrio cholerae* O1 y O139 a partir de tapones rectales fueron excelentes; 96% y 92%-93% y 98% respectivamente. Los indicadores muestran ser más eficientes para la detección de cólera a partir de tapones rectales enriquecidos que a partir de muestras de heces directamente. Los indicadores también fueron útiles para identificar un caso de infección mixta causada por O1 y O139, lo cual no hubiera sido reconocido en un cultivo bacteriológico, debido a que usualmente solo una de las dos colonias es tomada para serotipificación. La introducción de indicadores ayudará a la identificación de los casos de cólera en las regiones más remotas afectadas, porque la prueba es muy simple y no requiere ninguna infraestructura especial. El indicador en su formato

actual, no puede detectar específicamente cepas toxigénicas de *Vibrio cholerae* O1 u O139 y por lo tanto un paso adicional sería requerido para detectar la producción de la toxina colérica. Sin embargo, hay que tener en cuenta que más del 95% de las cepas O1 y O139 son toxigénicas. Esfuerzos para integrar a O1 y O139 y la habilidad de detectar la producción de la toxina colérica en un solo indicador están siendo realizados. Esto simplificaría aun más la prueba y la haría más informativa, por lo que podría convertirse en un método de elección diagnóstico (25).

La importancia de un sistema de vigilancia eficiente para la detección temprana del cólera continúa siendo desarrollada por la Organización Mundial de la Salud con la consideración de mejorar la evaluación del riesgo potencial de brotes de cólera. Adicionalmente, cuando ya se ha establecido el brote, un diagnóstico rápido del cólera es esencial para la movilización de recursos para tratamiento y contención del brote. Por lo tanto, la necesidad de pruebas diagnósticas sensibles y específicas que puedan ser utilizadas por personal con mínima capacitación y que requiera infraestructura de laboratorio insignificante es evidente e importante a nivel mundial.

## TRATAMIENTO

Debido a que la deshidratación es el mayor problema que presenta la infección por *Vibrio cholerae*, es esencial la reposición de líquidos y electrolitos para evitar que la pérdida masiva de líquido provoque consecuencias graves para el paciente como lo es un shock hipovolémico (5).

En los casos leves y moderados de la enfermedad se puede tratar al paciente con sales rehidratantes orales y debe vigilarse que no haya emesis y que la pérdida de líquido por las heces no supere la ingesta del suero oral. Si se presenta emesis profusa, debe canalizarse la vena para dar una terapia rehidratante parenteral. El Lactato de Ringer, o solución de Hartman, resulta el más idóneo en el manejo del cólera severo. Se necesitan entre 50 y 100ml/min inicialmente, hasta que el pulso del paciente se normalice (en los casos graves), y posteriormente se administran líquidos endovenosos a razón de 500 ml por encima de las pérdidas en 24 horas, hasta la recuperación. Los pacientes severamente deshidratados deben recibir inicialmente un bolo del 10%-20% de su peso corporal en Lactato de Ringer (2).

A diferencia de los adultos, los niños eliminan heces con una concentración de sodio muy inferior a la plasmática y presentan hipoglicemia, por lo cual es recomendable para la rehidratación, utilizar una solución que contenga 95mEq de Na, 65mEq de cloro, 15mEq de potasio, 45mEq de bicarbonato y 20grs de glucosa por litro (2).

El tratamiento antibiótico puede ser una ayuda secundaria para reducir la producción de exotoxina y eliminar al microorganismo rápidamente. Los antibióticos de elección son la doxiciclina y la tetraciclina (500 mg cada seis horas) para los adultos, el trimetropin-sulfametoxazol (8 mg de trimetropin y 40 mg de sulfametoxazol por kg/día dividido en dos tomas durante 72 horas) y la eritromicina (30 mg/kg/día dividida en tres tomas diarias, durante 72 horas) para los niños. Teniendo en cuenta los efectos teratogénicos de la tetraciclina se recomienda utilizar furazodilina en mujeres embarazadas. El efecto de la tetraciclina, es reducir la cantidad de materia fecal expulsada y acortar el periodo de excreción de vibriones. También es posible utilizar el cloramfenicol que es igualmente efectivo y se utiliza a las mismas dosis y durante el mismo tiempo que las tetraciclinas. Lamentablemente, se ha observado que algunas cepas de *Vibrio cholerae* pueden ser resistentes a la tetraciclina (resistencia transportada por plásmidos), al trimetropin/sulfametoxazol y al cloramfenicol, por lo cual en estos casos deben buscarse otras alternativas de fármacos con una cinética similar a los de elección (2,5,7).

Lo anterior, fue evidenciado entre 1993 y el 2000, cuando ocurrió un cambio en los patrones de sensibilidad en cepas de *Vibrio cholerae* O1 aisladas de la República Democrática de la Gente de Lao. A pesar de que los patógenos eran sensibles a los tratamientos antimicrobianos, se observó que cepas aisladas después 1997 fueron encontradas moderadamente resistentes a las tetraciclinas y el cloramfenicol y altamente resistentes al trimetropim-sulfametaxol. Recientemente, se ha descrito que el integran clase I ha estado asociados con la resistencia para agentes antimicrobianos. Los genes de resistencia incluidos en el SXT son *flor*, *teta*, *strab* y *sulii*, que codifican la resistencia a cloranfenicol, tetraciclina, estreptomina y sulfametoxazol, respectivamente (26).

Múltiples resistencias antibióticas en *V. cholerae* han sido descritas, frecuentemente tras la adquisición de plásmidos R provenientes del grupo C conjugado.

Análisis de SXT (LAOS) mostraron que hay un continuo flujo de genes entre *Vibrio cholerae* SXT, lo que debe ser monitoreado cuidadosamente, pues puede generar cepas multiresistentes que no dejen alternativa alguna de tratamiento y haría que se complicara el control de una enfermedad tan fácilmente difusible como el cólera (27).

## PREVENCIÓN

La mejor manera de poder prevenir la enfermedad es por medio de la educación y mejorando las condiciones sanitarias; lo que incluye el manejo de excretas, aguas residuales, el uso de sistemas de purificación y evitar la contaminación de alimentos por parte de las industrias alimenticias. Debe también aislarse a los pacientes, desinfectar sus excretas y adicionalmente efectuar el seguimiento de los contactos para evitar que la infección se siga propagando (5,7).

El estado convaleciente del cólera conlleva a una fuerte y duradera inmunidad dirigida principalmente contra el antígeno O del LPS. De esta manera, la vacunación parecería ser una estrategia poderosa de prevención contra la enfermedad. El reconocimiento de que la protección depende de la estimulación eficiente del sistema inmune mucosal ha favorecido el concepto de una vacuna oral viva atenuada de dosis única. Bajo este concepto se desarrollo una vacuna segura y con pocos efectos adversos, de dosis única que contiene 10 UFC de *Vibrio cholerae* 638, con una buena respuesta inmunogénica y capaz de proporcionar protección por un tiempo corto de aproximadamente un mes contra el cólera. Debido a este corto tiempo de inmunidad, se podría pensar en esta estrategia como una alternativa para viajeros a zonas endémicas cuya estadía vaya a ser corta creando así un impacto a nivel de la salud pública, reduciendo la expansión y generación de epidemias o pandemias. Sin embargo aun se encuentra sujeta a investigación especialmente la evaluación de respuesta en áreas endémicas (28).

Se tienen disponibles algunas otras presentaciones de vacunas. Existe una vacuna parenteral del cólera a partir de microorganismos inactivados para las cepas O1, sin embargo, hay muchas razones que demuestran la ineficacia de la vacuna entre las cuales cabe nombrar: la protección que esta vacuna proporciona es de poca duración (de tres a seis meses) y solo protege al

50% de los vacunados, no altera favorablemente la severidad de la enfermedad, no reduce la proporción de infección asintomática, no previene el ingreso de la enfermedad a un país, no previene la diseminación de la enfermedad, debe ser aplicada en dos dosis (con 28 días de intervalo), toma de ocho a diez días para inducir inmunidad cuando lo hace y da un falso sentido de seguridad a los vacunados y a las autoridades sanitarias (2,5).

Se encuentran disponibles dos nuevas vacunas orales que se utilizan para la protección de los viajeros a países con cólera endémico y que poseen una preparación diferente; la primera es una vacuna de un microorganismo muerto con la combinación de la subunidad CTXB del toxoide. La segunda, es una vacuna a la cual se le suprimen los genes que codifican la sub-unidad A tóxica (*ctxA*) de la toxina colérica, dejando indemnes aquellos que codifican la sub-unidad B no tóxica (CTXB); esta vacuna se produce en una nueva cepa de *Vibrio*, la CUD 130 atenuada; todo este procedimiento se efectúa por medio de ingeniería genética. La eficacia de la vacuna produce protección limitada en niños mayores de cinco años y además múltiples dosis son requeridas debido a la falta de colonización en el intestino de estos pacientes. La vacuna con la CTX defectuosa muestra eficacia entre el 50-52% en los niños de tres años, siendo solo de 26% en personas menores de cinco años (2,5,29).

Comparada con la vacuna del microorganismo muerto, una vacuna oral atenuada ofrece una gran promesa para prevenir el cólera debido a que se requiere una única dosis para causar colonización activa, provocar altos títulos de anticuerpos séricos y estimular la inmunidad mucosal, que es capaz de bloquear la adherencia bacteriana, matar las bacterias y neutralizar la toxina, proveyendo así una excelente protección. Varias vacunas candidatas orales atenuadas han sido desarrolladas, incluyendo CVD101, CVS103, CVD 103-HgR, CVD111, Peru-14 y Peru-15 y algunas han sido utilizadas en ensayos clínicos (29).

Sin embargo, el descubrimiento de CTXAB como parte del fago lisogénico CTX $\phi$  y de la transferencia del mismo desde cepas toxigénicas a cepas no toxigénicas cuestionó la seguridad del uso de vacunas atenuadas orales construidas genéticamente, ya que, las cepas de la vacuna atenuada podrían potencialmente recobrar la virulencia adquiriendo el gen de la

enterotoxina horizontalmente de cepas toxigénicas en el intestino de los individuos. De esta manera, el desarrollo de una vacuna oral atenuada protectora y segura, inmune a la infección por CTX $\phi$  se convirtió en un problema por resolver.(29)

El genoma de CTX $\phi$  puede ser dividido en la región del core, que carga a *ctxab* y a genes requeridos para la morfogénesis del virión, y la región RS2, que carga *rsta* y *rstb*, que son requeridos para la replicación e integración del genoma, y un gen represor, *rstr*. Basados en la secuencia de *rstr* y los huéspedes bacterianos, se estableció que CTX $\phi$  tiene varios alelos. Ensayos de transducción intrainestinal de CTX $\phi$  mostraron que cepas El Tor son inmunes a la infección con CTX $\phi$  derivados de otras cepas El Tor (CTX $\phi$ ET), mientras que las cepas clásicas de *Vibrio cholerae* no lo son. Este tipo de inmunidad a CTX $\phi$  es específica de biotipo y esta mediada por el represor, *rstr*, a través de la represión de la expresión génica de *rsta* y *rstb*. Con base en esta información, se desarrolló recientemente una vacuna oral, IEM108 de cepas El Tor naturalmente no toxigénicas y se le introdujo un gen *rstr* de una cepa Bin-43 El Tor con el fin de conferir protección contra la infección con CTX $\phi$ ET. Los resultados de este proceso fueron exitosos, pues el gen *rstR* fue expresado activamente y así se logró disminuir la posibilidad de reversión toxigénica de la vacuna. Adicionalmente a *rstR*, *ctxB* fue introducida simultáneamente para provocar una respuesta inmunológica antitoxina. IEM108 fue probada en animales y demostró inducir altos niveles de anticuerpos vibriocidas y anti-CTXB y confirió protección total por lo menos contra 4mg de CTX y cuatro cepas de *Vibrio cholerae*. Esto sugiere que hay un efecto sinérgico entre la inmunidad antitoxina y antibacteriana de IEM108. Así, se pudo concluir que la vacuna viva atenuada IEM108 resulta tanto inmunogénica como protectora siendo una excelente candidata para establecerse como vacuna oficial contra el cólera. Sin embargo, estudios posteriores en humanos serán necesarios para dicho establecimiento y para comprobar su verdadera efectividad y seguridad (22).

Hasta el momento no se dispone de ninguna vacuna contra las cepas O139 (5).

Como alternativa, es posible utilizar la profilaxis antibiótica con tetraciclina para reducir el riesgo de infección, especialmente en los individuos que viajan a zonas endémicas, aunque se prefiere no utilizarla

en personas que tienen buena higiene. No obstante, es importante tener en cuenta que de esta manera no se previene la propagación del cólera. En general, la quimio-profilaxis no ha resultado efectiva debido a que la enfermedad se disemina a una velocidad mayor que la que permite la distribución y actuación del medicamento, el efecto del medicamento dura pocos días, se requeriría tratar simultáneamente a la totalidad de la población para prevenir la infección y la logística implícita es casi imposible (2,5).

La Organización Mundial de la Salud ha propuesto una serie de medidas para controlar la enfermedad, que pueden dividirse en fases: 1). Medidas de control ante el riesgo de una epidemia, donde se incluyen la creación de un Comité de control (nacional, regional y local) que coordina todas las actividades, vigilancia de la ocurrencia de Enfermedad Diarreica Aguda (EDA), saneamiento ambiental, preparación para el manejo clínico, preparación de una red de laboratorios y preparación de equipos móviles de respuesta inmediata; 2). Medidas de control durante la fase epidémica, entre las que se encuentran, la detección precoz de casos, la organización de centros de tratamiento, la investigación epidemiológica (identificación del modo y los vehículos de transmisión, caracterización del agente causal) y organización de una infraestructura de laboratorio; 3). Medidas de control en la fase post-epidémica, que encierra todo lo que es control de laboratorio (casos de EDA y monitoreo ambiental), saneamiento ambiental a largo plazo (agua potable, alcantarillado y vigilancia) y educación a la comunidad (2).

## CONCLUSIONES

El cólera es una entidad que cursa con cuadros de diarrea secretora aguda, que conllevan a la deshidratación y que de no ser tratada rápida y apropiadamente puede generar un shock en el paciente con consecuencias desastrosas. El agente etiológico de dicha enfermedad es el *Vibrio cholerae*, un bacilo gram negativo que posee un alto grado de patogenicidad ya que contiene múltiples factores de virulencia que le confieren la capacidad de infectar y a la vez evadir la respuesta inmune del hospedero. El factor de virulencia más importante del *Vibrio cholerae* es la toxina colérica que es en sí la causante de la disentería. El cólera, se ha presentado en múltiples ocasiones como pandemias y epidemias y es inclusive endémico en algunos países. Los serotipos de mayor

importancia son el *Vibrio cholerae* O1 y el *Vibrio cholerae* O139. El diagnóstico e identificación del microorganismo es posible por diferentes métodos convencionales de laboratorio y recientemente se están elaborando herramientas simples y de diagnóstico rápido que faciliten la caracterización del microorganismo como causante de un cuadro clínico diarreico. El tratamiento se basa principalmente en la reposición de líquidos y electrolitos, aunque existen algunos fármacos útiles que pueden utilizarse como coadyuvantes. No se encuentra disponible hasta el momento una vacuna como medio profiláctico ante el cólera, sin embargo se han venido desarrollando vacunas orales atenuadas que parecen ser buenas candidatas para la protección e inmunización contra *Vibrio cholerae*. El control y erradicación de una enfermedad tan seria como el cólera radica principalmente en el mejoramiento de las condiciones sanitarias, lo cual sin duda no podrá ser posible hasta que no exista una buena educación, lo que convierte al cólera en un problema de mayor importancia en los países subdesarrollados.

## REFERENCIAS

1. Bosch, M. A, Pujol, C. Nueva Enciclopedia Larousse. 1981. 1ª Edición, Vol 3, Barcelona, Editorial Planeta S.A. pag 2090.
2. Toro, G. Cólera. 1991. 1ª Edición, Serie de Notas e Informes Técnicos N. 19, Bogotá, D.C., República de Colombia, Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud.
3. Mandell, G. L, Bennett, J. E, Dolin, R. Principles and Practice of infectious Diseases. 2000. 5th Edition, Vol 2, Philadelphia, Churchill Livingstone. Chap 202: pag 2266-2271.
4. Gynup S. June 14, 2004. <http://news.nationalgeographic.com/news/2004/06/0614040614vcholera.html#main>. View30/10/04
5. Murray, P. R, Rosenthal, K. S, Kobayashi, G. S, Pfaller M. A. Microbiología Médica. 2003. 4ta Edición. Madrid. Ed. Mosby/Elsevier. pag 21, 277-282.
6. Nesper, J. et al. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor galU and galeE mutants: influence on lipopolysaccharide structure, colonization, and biofilm formation. *Infection & Immunity*. 69(1):435-45, (2001).
7. Brooks, G. F, Morse, S. A, Butel, J.S. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 1999. 16ª Edición, México, Ed. Manual Moderno. Cap 18: pag 291-294.
8. Singh, D. V. et al. Molecular analysis of *Vibrio cholerae* O1, O139, non-O1, and non-O139 strains: clonal relationships between clinical and environmental isolates. *Applied & Environmental Microbiology*. 67(2):910- 21, (2001).
9. Robert K. Murria, Daril K. Granner, Meter A. Mayes, Victor W. Rodwell. Bioquímica de Harper. Décima quinta edición en español. 2001. Manual Moderno. Mexico. Pag 984-987
10. Kam, K. M. et al. Molecular subtyping of *Vibrio cholerae* O1 and O139 by pulsed-field gel electrophoresis in Hong Kong: correlation with epidemiological events from 1994 to

2002. *Journal of Clinical Microbiology*. 41(10):4502-11, (2003).
11. Nair, G. B. *et al.* New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *Journal of Clinical Microbiology*. 40(9):3296-9, (2002).
  12. Mandell, G.L., Bennett, J.E, Dolin, R. Enfermedades infecciosas: principios y práctica. 2002. 5ª Edición, Vol 1, Buenos Aires, Ed. Médica Panamericana. Cap 175: pág 1051-1064
  13. Angelichio, M, Merrell, S and Camilli1, A. Spatiotemporal Analysis of Acid Adaptation-Mediated *Vibrio cholerae* Hyperinfectivity. *Infection & Immunity* Apr. 2004, p. 2405-2407.
  14. Murley, Y.M., Carroll, P.A., Skorupski, K., Taylor, R.K. & Calderwood, S.B. Differential transcription of the tcpPH operon confers biotype-specific control of the *Vibrio cholerae* ToxR virulence regulon. *Infection & Immunity*. 67(10):5117-23, (1999).
  15. Fullner, K. J. *et al.* The contribution of accessory toxins of *Vibrio cholerae* O1 El Tor to the proinflammatory response in a murine pulmonary cholera model. *Journal of Experimental Medicine*. 1455-1462 (195).
  16. Hang, L. *et al.* Use of in vivo-induced antigen technology (IVIAT) to identify genes uniquely expressed during human infection with *Vibrio cholerae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100(14):8508-13, (2003).
  17. Qadri, F. *et al.* Increased levels of inflammatory mediators in children and adults infected with *Vibrio cholerae* O1 and O139. *Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology*. 9(2):221-9, (2002).
  18. Qadri, F, Bhuiyan, T. R. *et al.* Acute dehydrating disease caused by *Vibrio cholerae* serogroups O1 and O139 induce increases mediators at the in innate cells and inflammatory mucosal surface of the gut. *Gut* 2004; 53:62-69.
  19. Karaolis, D. K., Somara, S., Maneval, D. R., Jr., Johnson, J. A. & Kaper, J. B. A bacteriophage encoding a pathogenicity island, a type-IV pilus and a phage receptor in cholera bacteria.[see comment]. *Nature*. 399(6734):375-9, (1999).
  20. Mims, C., Playfair, J, Roitt, I, M. Microbiología Médica. 1999. 2a Edición, Madrid, Harcourt Brace. Pag 527
  21. Harrison, T. R, *et al.* Principios de Medicina Interna. 15ª Edición, Vol 2, México, McGraw Hill-Interamericana de España, S.A.U. Undécima Parte: pág 1906-1910.
  22. Munirul Alam, Abdus Sadique, Nur-A-Hasan. *et al.* Effect of Transport at Ambient Temperature on Detection and Isolation of *Vibrio cholerae* from Environmental Samples. *Applied and environmental microbiology*, Mar. 2006, p. 2185-2190 Vol. 72, No. 3.
  23. Nato, F. *et al.* One-step immunochromatographic dipstick tests for rapid detection of *Vibrio cholerae* O1 and O139 in stool samples. *Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology*. 10(3):476-8, (2003).
  24. Gary P. Richards, Michael A. Watson, and Salina Parveen. Development of a Simple and Rapid Fluorogenic Procedure for Identification of Vibrionaceae Family Members. *Applied and environmental microbiology*, July 2005, p. 3524-3527 Vol. 71, No. 7.
  25. Bhuiyan, N. A. *et al.* Use of dipsticks for rapid diagnosis of cholera caused by *Vibrio cholerae* O1 and O139 from rectal swabs. *Journal of Clinical Microbiology*. 41(8):3939-41, (2003).
  26. Masaaki Iwanaga, Claudia Toma, Tomoko Miyazato. *et al.* Antibiotic Resistance Conferred by a Class I Integron and SXT Constin in *Vibrio cholerae* O1 Strains Isolated in Laos. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, July 2004, p. 2364-2369 Vol. 48, No. 7.
  27. Iwanaga, M. *et al.* Antibiotic resistance conferred by a class I integron and SXT constin in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated in Laos. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*. 48(7):2364-9, (2004).
  28. García L, Díaz M. *et al.* The Vaccine Candidate *Vibrio cholerae* 638 Is Protective against Cholera in Healthy Volunteers. *Infection & Immunity* May 2005, p. 3018-3024.
  29. Liang, W. *et al.* Construction and evaluation of a safe, live, oral *Vibrio cholerae* vaccine candidate, IEM108. *Infection & Immunity*. 71(10):5498- 504, (2003).

## TRICOMONIASIS

CLAUDIA GARCÍA<sup>1</sup>, MARÍA PAULA MEJÍA<sup>1</sup>, MICHELA MORENO<sup>1</sup>,  
DIANA MUÑOZ<sup>1</sup>, CARMEN MORLÁS<sup>2</sup>

### RESUMEN

La tricomoniasis, una de las enfermedades de transmisión sexual de más amplia distribución mundial y, de una relativa buena respuesta a los tratamientos farmacológicos, también puede relacionarse con complicaciones de mayor gravedad como son la enfermedad pélvica inflamatoria atípica, la esterilidad y el desarrollo de infecciones por los virus del papiloma humano y el sida. Su agente etiológico, *Trichomonas vaginalis*, se puede detectar en las secreciones genitales de las personas infectadas y, aunque su diagnóstico es sencillo, con mucha frecuencia no se reporta y son escasos los programas de salud orientados a su control. El conocimiento de los mecanismos que utiliza el parásito para instaurarse en el ser humano, su único huésped natural, así como la relación directa que tiene con el virus del sida nos motivaron a profundizar en los mecanismos con los cuales produce enfermedad y en las consecuencias de su infección.

**Palabras clave:** tricomoniasis, enfermedad pélvica inflamatoria, papiloma virus humano, esterilidad, sida.

### ABSTRACT

Trichomoniasis is one of the most common worldwide sexually transmitted disease (STD) that responds effectively to pharmacological treatments. However, it can be associated with major complications such as pelvic inflammatory disease (PID) inflammation, sterility and may trigger the development of infections due to human papilloma virus (HPV) and human immunodeficiency virus (HIV). Trichomoniasis caused by *Trichomonas vaginalis*, can be detected in genital fluids of infected patients. However, although the diagnosis of this disease is simple, frequently is ruled out or no reported mostly due to the lack of health programs oriented to control the disease factor that increase the risk of disease spread. The acknowledgment of the mechanisms used by the parasite to invade the human body, as well as its relationship with HIV infection, lead us to explore in detail the mechanisms underlying the course of the infection and the progression of the disease.

**Keywords:** trichomoniasis, pelvic inflammatory disease, human papilloma virus, sterility, AIDS.

### INTRODUCCIÓN

La tricomoniasis es una de las enfermedades de transmisión sexual (ETS) más frecuentes a nivel mundial y que compromete con más frecuencia a mujeres que a hombres (1). Suele ser sintomática en la mayoría de los casos, especialmente cuando se trata del sexo femenino y aunque no compromete gravemente el

estado general de salud de los pacientes, si puede relacionarse con graves complicaciones. Su único agente etiológico es *Trichomonas vaginalis*, un protozoo flagelado que solo infecta de manera natural a la especie humana y que en los hombres tiende a hacer infecciones asintomáticas o subclínicas, obligando a que el tratamiento deba administrarse tanto al infectado, como a sus compañeros de actividad sexual.

<sup>1</sup> Estudiante IV Semestre Facultad de Medicina. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>2</sup> Docente Facultad de Medicina Universidad Militar Nueva Granada.  
Dirección electrónica para correspondencia: [u0400465@umng.edu.co](mailto:u0400465@umng.edu.co)

En la mujer produce vulvovaginitis de diferentes grados de intensidad y en los hombres, cuando es sintomática, ocasiona uretritis y prostatitis crónica, pudiendo presentarse complicaciones en ambos sexos. *T. vaginalis* también se relaciona con un incremento del riesgo de transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana y eventualmente la literatura ha reportado infecciones oculares y respiratorias en neonatos, adquiridas por el canal del parto en el momento del nacimiento (1-5). Estas últimas, junto con un pequeño porcentaje aislado y eventual de infecciones adquiridas a través de objetos de aseo personal contaminados, son los únicos casos en los que el contacto sexual no es la causa de la infección (1,2,6).

Aunque no hay evidencia de susceptibilidad relacionada con la raza o con la edad, si hay factores que facilitan la instauración de la enfermedad, como son el desaseo, la promiscuidad sexual, los altos niveles de estrógenos y glucógeno vaginal y las alteraciones de la flora vaginal normal, entre otros (1, 2,6).

En los últimos años las revisiones sobre *T. vaginalis* se han centrado en los análisis de sus factores de adhesión, en los mecanismos desarrollados para resistir el efecto de los medicamentos con que tradicionalmente se erradicaba, en las proteínas de membrana involucradas en los cambios de su morfología y en la formación de vesículas que pueden servir como vehículo para otros microorganismos de menor tamaño como virus y bacterias (3-5,7).

## AGENTE ETIOLÓGICO

*T. vaginalis* fue descrito por primera vez por Alfred Donné en 1836. Es un protozoo flagelado de forma ovalada que mide 9 por 7  $\mu\text{m}$ , que tiene un único y prominente núcleo, una estructura rígida llamada axostilo que se extiende desde su parte anterior hasta la posterior, cinco flagelos, cuatro en la porción anterior y otro conformando la membrana ondulante y un hidrogenosoma, su única fuente de energía y organelo que le resulta indispensable para su metabolismo anaeróbico. Se alimenta de células epiteliales, hematíes y bacterias, los cuales ingresa a su citoplasma por fagocitosis (2,3,6,8).

## Ciclo de vida

Como no forma estadios de quiste, su ciclo de vida es sencillo, limitado a fisiones binarias en su estadio

de trofozoito, que a su vez es la forma infectiva. No requiere de huéspedes intermediarios y de su forma piriforme típica, suele pasar a una forma ameboide en su proceso de adhesión al epitelio urogenital (2,6-8).

## Especies de *Trichomonas* no patógenas

En el ser humano se han reportado tres especies de *Trichomonas*, cada una con un tropismo específico, pero solo *T. vaginalis* se considera patógena para los humanos. *Trichomonas ténax* se encuentra en las mucosas gingival y traqueobronquial y *Pentatrichomonas hominis* en el tracto gastrointestinal (2).

*Trichomonas foetus*, una especie no humana que causa abortos y enfermedad de transmisión sexual en bovinos, se ha aislado de la placenta, los pulmones fetales, el intestino y los nódulos linfáticos de estos animales (2). Esta especie se usa mucho en estudios experimentales sobre factores de virulencia y proteínas de adhesión, pues además de la similitud morfológica con *T. vaginalis*, induce una respuesta inmune similar en el epitelio de los bovinos (2).

## FACTORES DE VIRULENCIA Y PATOGENICIDAD

Los mecanismos involucrados en la patogénesis de *T. vaginalis* no están totalmente definidos y las investigaciones más recientes se han dirigido a dilucidar los eventos de adherencia, un mecanismo indispensable para que se establezca la infección. Además de las moléculas involucradas en la adherencia, también se estudian las responsables de la hemólisis y el efecto de los factores solubles como son las proteasas extracelulares (9).

## Adherencia

La adherencia del trofozoito al epitelio es esencial para iniciar y mantener la infección, así como para su supervivencia (10). En estudios experimentales en cultivos celulares se ha podido demostrar que el complejo de unión intercelular, responsable de mantener la integridad tisular, es alterado por *T. vaginalis* a través de sus complejos proteicos y enzimáticos de diferentes maneras. Una de ellas es la modificación en la distribución de las proteínas que conforman el complejo de unión intercelular,

como son las ocludinas, las claudinas y la proteína de la membrana celular ZO-1, de quienes depende la permeabilidad celular y la unión dependiente de calcio entre células adyacentes (11).

Durante la adhesión y en presencia de una alta concentración de hierro, *T. vaginalis* induce una disminución progresiva, e incluso pérdida total, de la resistencia eléctrica epitelial. En contraste, y con bajas concentraciones de hierro, esta disminución es gradual y no se llega a pérdida total de ella, hecho que indica el papel estimulante del hierro en la patogenicidad de *T. vaginalis* (11,12).

Se ha sugerido que al disminuir la resistencia eléctrica epitelial y al alterarse el complejo proteico de unión intercelular, esta termina destruyéndose, de tal manera que se incrementa el área de contacto del parásito con el epitelio, durante su transformación ameboide (11).

La adhesión de *T. vaginalis* es multifactorial y está mediada principalmente por cuatro proteínas de superficie denominadas AP65, AP51, AP33 y AP23, que se expresan alternativamente con una glucoproteína inmunogénica llamada P-270, codificadas por al menos tres genes, de una gran familia de genes que son regulados por la presencia de hierro (9,10). Una vez adherido, el trofozoito emite pequeños pseudópodos, cambio morfológico que a su vez induce la expresión de más adhesinas, sugiriendo que el paso a la forma ameboide se relaciona de alguna manera con la inducción de señales de transducción, que a su vez requiere de la producción de proteasas de cisteína parasitarias (CP) (9).

AP65, AP51 y AP33 tienen homología con enzimas metabólicas y tienen la capacidad de intercambiar funciones de acuerdo con su localización celular (9). En un estudio en el que se hizo transfección de *T. foetus* para que expresara AP65 de *T. vaginalis* se observó su adherencia a células de epitelio vaginal, la cual se inhibía parcialmente con un anticuerpo anti-AP65, demostrándose así que se trata una de las varias moléculas implicadas en la adhesión (13).

Otra proteína de adhesión, la glucoproteína AP120 que tiene homología con la enzima ferredoxín-oxirreductasa, ausente en los mamíferos, se encuentra distribuida en toda la superficie de los parásitos y su expresión, que también se relaciona con la concentración de hierro, refuerza la interacción para-

sitaria con el epitelio después de la adhesión inicial. Es importante anotar que en un estudio realizado en mujeres infectadas, se detectaron anticuerpos anti-AP120, lo que evidencia su carácter inmunogénico (10).

La enzima málica, cuyos genes son similares a los que codifican para las proteínas AP, interviene en el secuestro de moléculas proteicas para la adhesión por medio de una descarboxilación (9,14).

Como *T. vaginalis* es capaz de incorporar y usar el hierro del medio, la concentración férrica del medio ayuda a incrementar la expresión de los genes que codifican las proteínas de adhesión, hecho que convierte a los eritrocitos en una importante fuente de nutrición para *T. vaginalis* (5,9). Experimentalmente se ha evidenciado que los niveles de adherencia alcanzados en presencia de hemoglobina y del grupo hemo son similares a los que se presentan cuando se tiene lactoferrina como única fuente de hierro (13).

La proteína de superficie TV44, compuesta por 438 aminoácidos y regulada por mecanismos de señalización independientes de hierro, también interviene en la adhesión. En experimentos con ratones se ha observado que anticuerpos de tipo IgA específicos para TV44 y obtenidos de secreciones de pacientes, les proporcionan defensa pasiva contra las infecciones, inhibiendo la adhesión del trofozoito a las células del epitelio vaginal (15).

## Daño celular

Una vez realizada la unión al epitelio, *T. vaginalis* hace uso de un arsenal de más de veinte CP para causar lisis celular. Estas CP son a su vez las moléculas más abundantes del protozoario e intervienen también en los procesos de adherencia. Experimentalmente, utilizando inhibidores de CP, se ha demostrado que son indispensables para la supervivencia del parásito y para la destrucción de los eritrocitos, los cuales, además de ser fuente de hierro, proveen al parásito de los ácidos grasos que requiere para su metabolismo (2,9,16,17).

*T. vaginalis* interactúa también con la matriz extracelular por medio de proteínas de unión a la fibronectina y la laminina, concentradas en toda la superficie parasitaria, contrario a las adhesinas, que se concentran en sitios específicos del cuerpo

del parásito. No está claro si los receptores de fibronectina están asociados con la adquisición de nutrientes, con la adhesión, o con ambos y se presume que la laminina interviene directamente en la adhesión, pues experimentalmente se ha visto que los trofozoítos se adhieren a materiales cubiertos con laminina (2,5).

A partir de extractos de cultivos de *T. vaginalis* se ha obtenido un factor soluble llamado factor lítico que tiene la capacidad de hidrolizar lípidos y fosfolípidos de células nucleadas y de eritrocitos, tal y como lo hace la fosfolipasa A2, por lo cual se lo considera también como factor de virulencia (16).

Para la lisis de los eritrocitos, actividad correlacionada con la virulencia del parásito, son indispensables las CP, proteasas similares a las perforinas y un conjunto de adhesinas, tres de ellas idénticas a las adhesinas de unión al epitelio vaginal. Además de ello, *T. vaginalis* también es capaz de hacer fagocitosis de eritrocitos (2,9,16).

En el proceso de daño celular hay que mencionar que además de sus propios mecanismos, el parásito también induce daño mediado por la generación de radicales libres, específicamente intermediarios nitrógeno dependientes (17).

*T. vaginalis* es un parásito que expresa genes antiapoptóticos estimulados a su vez por la producción de citoquinas y por factores de crecimiento que se incrementan durante el proceso de adhesión, de tal forma que el parásito, al inhibir la apoptosis, está interfiriendo con un mecanismo natural del huésped como es el de eliminar células dañadas, en este caso por la acción parasitaria (4).

### **Interacción con la flora bacteriana vaginal**

Las alteraciones de la flora vaginal en las que se baja la cantidad de *Lactobacillus acidophilus* y se incrementa la proporción de otros microorganismos anaerobios favorecen el crecimiento de este parásito que por carecer de mitocondria, es también anaerobio (2,6). El efecto protector de *L. acidophilus*, habitante normal del epitelio vaginal y que ayuda en el mantenimiento de un pH ácido, poco óptimo para el desarrollo de *T. vaginalis* no está bien definido y se ha observado experimentalmente que los trofozoítos tienen la capacidad de fagocitar estas bacterias y de destruirlas a través de su arsenal

de CP. Cuando se incrementa el pH vaginal, por métodos independientes de los metabolitos bacterianos, los trofozoítos pueden desarrollarse, incluso en presencia *Lactobacillus* (6,9).

## **RESPUESTA INMUNE Y EVASIÓN A LA RESPUESTA INMUNE**

Infecciones naturales permiten observar que la inmunidad protege parcialmente y que se pueden presentar varios episodios de tricomoniasis durante la vida. La primera línea de defensa frente al parásito es la activación de la vía alterna del complemento, el aumento de los niveles locales de zinc y el de células fagocíticas, los cuales persisten, incluso después de controlada la infección. Esta respuesta innata, que se expresa con un flujo de neutrófilos dirigido a eliminar los trofozoítos es mucho más importante que la respuesta adquirida, estando demostrado que los anticuerpos específicos que se encuentran, tanto en el tracto reproductivo como en el suero, no son indispensables en la eliminación de los parásitos (2,9,17).

Llama la atención que si bien las adhesinas determinan el primer paso para el establecimiento de la enfermedad, los anticuerpos anti-adhesinas y anti-moléculas solubles parasitarias son insuficientes para bloquear la infección, lo que lleva a pensar en otros factores aún no esclarecidos en el control de la tricomoniasis (2).

La gran mayoría de infecciones experimentales se realizan en ratones, a los que también se les inoculan *Lactobacillus*, para crear un ambiente similar al de la vagina humana; sin embargo, no siempre se logran las infecciones intravaginales en estos animales, lo que deja un margen de duda acerca de la extrapolación al humano de este tipo de experimentos (8).

Desde las fases iniciales de la infección hay una notoria migración de neutrófilos que atraviesan la barrera epitelial al sitio de infección, así como de linfocitos y monocitos en menor grado. En experimentos en los que se estimulan cultivos de neutrófilos y monocitos humanos con *T. vaginalis* se ve incrementada la producción de IL-8 y de proteína quimiotáctica de monocitos, independientemente del tamaño del inóculo. También se observa que los pacientes con infección sintomática presentan

un mayor aumento de IL-8, comparados con los asintomáticos y que hay una importante migración de macrófagos para realizar fagocitosis del parásito, tal y como sucede con otros protozoos, aunque para ello *T. vaginalis* haya realizado estrategias de evasión a este mecanismo (19).

Durante su adhesión, *T. vaginalis* induce inicialmente un aumento en la síntesis y actividad del factor nuclear NF- $\kappa$ B que reduce transitoriamente la apoptosis del macrófago, pero luego de una adhesión prolongada, se inhibe la síntesis de NF- $\kappa$ B y con ello la expresión de TNF- $\alpha$  e IL-12, que conduce a una disminución en la actividad del macrófago y aunque este parásito no vive dentro de ellos, si se altera la respuesta inflamatoria encargada de abortar las infecciones. Además, *T. vaginalis* tiene la habilidad de ingerir y metabolizar lipoproteínas cuyos metabolitos inhiben la producción de IL-12, citocina promotora de una respuesta inflamatoria efectiva (20-22).

En estudios experimentales realizados con ratones se ha demostrado que la concentración en el epitelio vaginal de reactivos intermediarios de nitrógeno como respuesta a trofozoítos provenientes de mujeres sintomáticas, es significativamente superior respecto a los de asintomáticas y, que dependiendo de la cepa de *T. vaginalis*, se genera una respuesta inmune específica que determina la aparición o no de los síntomas. De esta manera puede entenderse que la sintomatología de la trichomoniasis se relaciona directamente con el grado de respuesta inflamatoria generada por el huésped durante la infección (19).

La habilidad de *T. vaginalis* para evadir la respuesta inmune se relaciona también con su tropismo por el moco cervical, en el que es escasa la cantidad de complemento, en contraste con la sangre menstrual, que representa una importante fuente de complemento citotóxico y que reduce su carga parasitaria sin impedir su supervivencia. Hay que recordar que en la sangre las *Trichomonas* encuentran en el hierro un factor facilitado de la adhesión (9).

De otra parte, los anticuerpos específicos IgG e IgA contra las adhesinas pueden ser degradados por el arsenal de CP parasitarias, las cuales también degradan la porción C3 del complemento y la gran cantidad de antígenos solubles secretados al medio, neutralizan anticuerpos y los linfocitos T citotóxicos (17).

Se sabe que uno de los factores que contribuyen con la cronicidad de la infección por *T. vaginalis* es la resistencia a la acción del óxido nítrico (ON), por medio de enzimas como la flavohemoglobina, que intervienen en la degradación del ON y en la producción de proteínas de choque térmico que protegen del estrés oxidativo. Esa degradación del ON se ve inhibida por concentraciones altas de O<sub>2</sub>, pero en el microambiente de la vagina, con altas concentraciones de bacterias anaerobias, se facilitan las condiciones de anaerobiosis que le son necesarias (9,23).

## EPIDEMIOLOGÍA

A nivel mundial la trichomoniasis es la enfermedad de transmisión sexual número uno y se estima que cerca de 5 millones de casos nuevos aparecen anualmente en los Estados Unidos, excediendo la incidencia de infecciones por *Chlamydia* y gonococo. Prevalce más en personas entre los 20 y 45 años y la incidencia es mayor en mujeres con múltiples parejas sexuales, o en grupos con altos índices de enfermedades de transmisión sexual (1,23-25).

El parásito se recupera del 66% al 100% de las parejas femeninas de hombres infectados y en el 22% al 80% de los compañeros sexuales masculinos de mujeres infectadas. Si bien es cierto que la infección puede autolimitarse, esto sólo sucede en cerca del 20% de las mujeres y por lo menos en el 40% de los hombres, quizás por la acción tricomónica de las secreciones prostáticas, o por la eliminación mecánica de los parásitos durante la micción. Como se trata de un parásito que puede sobrevivir varias horas en ambientes húmedos como sanitarios y elementos de aseo personal, eventualmente no se adquiere por contacto sexual. En los recién nacidos, durante su paso por el canal de parto se pueden presentar infecciones y se calcula que entre el 2% y el 17% de los hijos de mujeres con trichomoniasis adquieren la infección (1,24,25).

## MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Cuando los síntomas aparecen, la manifestación clínica más frecuente en la mujer es la vaginitis, acompañada de prurito, eritema, dolor abdominal bajo, disuria y una leucorrea maloliente cuyo pH

está generalmente por encima de 4,5. En las paredes de la vagina se pueden observar microfocos hemorrágicos que cuando comprometen el cuello del útero le dan un “aspecto de fresa”, hallazgo muy relacionado con esta infección. En el hombre es infrecuente el desarrollo de sintomatología y cuando sucede, se manifiesta como uretritis con disuria y eliminación de flujo por la uretra. También, aunque con menor frecuencia, se puede presentar prostatitis crónica (1,2,9,16,26).

## COMPLICACIONES ASOCIADAS A *T. VAGINALIS*

### Parto prematuro

En mujeres embarazadas con tricomoniasis existe un mayor riesgo de parto prematuro relacionado con un incremento de los niveles de fosfolipasa A2 en las secreciones vaginales. Se ha propuesto que la destrucción de los parásitos por la terapia farmacológica podría generar un incremento de las enzimas parasitarias y proteasas, las cuales podrían mediar la destrucción celular y contribuir con el parto pretérmino (5). También es reconocido el incremento de los partos prematuros en asociación con infecciones bacterianas por *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* y otras bacterias, aisladas en los cultivos de líquido amniótico; si se tiene en cuenta que *Trichomonas* puede actuar como vehículo de *M. hominis*, se incrementa su relación con esta complicación del embarazo (27).

### Infertilidad

La salpingitis generada durante la tricomoniasis aumenta el riesgo de infertilidad en mujeres. Las reinfecciones con *T. vaginalis* aumentan la probabilidad de desarrollar esta complicación. Así mismo en hombres *T. vaginalis* afecta la motilidad, viabilidad y viscosidad de los espermatozoides (1).

### Aumento de la transmisión del virus del sida

En la transformación ameboide y después de la adhesión, *T. vaginalis* muestra un contorno irregular que indica la remodelación de su superficie celular y forma. Durante este proceso las membranas que contienen la subunidad alfa de la proteína G de *T. vaginalis* (TvG-alfa) se diferencian en vesículas bien

definidas, que proliferan en número y ocupan un mayor volumen celular. En una fase tardía estas vesículas se reagrupan hacia la periferia celular dando lugar a la formación de un pseudópodo relacionado con la secreción (7).

Como en *T. vaginalis* las partículas del virus del sida se encuentran en vesículas TvG-alfa positivas, es posible que se descargue el virus después del contacto con el epitelio, como resultado de la transformación ameboide, contribuyendo a un incremento en el riesgo de transmisión (7).

Durante la coinfección de *T. vaginalis* con el virus del sida la inmunidad innata inducida por la presencia del parásito se convierte en una vía facilitadora para el establecimiento del virus debido a que la producción de citocinas proinflamatorias, dentro de ellas el TNF- $\alpha$  y las quimiocinas llevan a una acumulación de leucocitos, dentro de ellos linfocitos CD4 y al aumento en la expresión del receptor TLR-4 que refuerzan la replicación viral (9,28,29). Hay estudios que revelan que la administración de un anticuerpo anti-TNF- $\alpha$  disminuye en casi un 50% la replicación del virus del sida en coinfección con *T. vaginalis* y de la misma forma la administración de metronidazol por diez días genera una disminución de las células infectadas por el virus en la secreción vaginal (28).

El tratamiento contra *T. vaginalis* en mujeres infectadas con sida también ha demostrado una disminución en los niveles de ARN viral y de la misma manera mujeres tratadas durante diez días con metronidazol oral reducen 4,2 veces la cantidad de virus en sus secreciones vaginales (28).

De otra parte, en los hombres seropositivos para sida con uretritis sintomática causada por *T. vaginalis* se observa una concentración de partículas virales en el semen seis veces mayor, comparados con hombres positivos para el virus del sida sin tricomoniasis (1,28).

Adicionalmente, el nivel de inhibidores de las proteasas secretadas por los leucocitos en pacientes infectados por *T. vaginalis* es significativamente bajo durante la primoinfección, aumentándose de esta manera el riesgo de infección por el virus del sida (28).

## Infecciones por *Mycoplasma hominis*

*M. hominis* tiene la capacidad de entrar al citoplasma de la *Trichomona* y multiplicarse dentro de ella, de tal manera que esa localización intracelular le confiere resistencia a las condiciones de estrés oxidativo generado por los mecanismos naturales de defensa y por las terapias farmacológicas, dificultando su erradicación. Sin embargo, no todas las bacterias poseen la habilidad de invadir y sobrevivir dentro del trofozoito y a su vez *T. vaginalis* posee diferentes grados de capacidad para soportar ese crecimiento (29).

## Neoplasia cervical

Al servir como vector del virus del papiloma humano, la trichomoniasis duplica el riesgo de desarrollar la neoplasia cervical atribuida a este virus (1).

## DIAGNÓSTICO

Para realizar un diagnóstico directo se debe tomar orina, flujo vaginal, semen, descarga uretral o secreciones prostáticas como muestras de elección. La visualización con microscopio de luz se debe hacer con solución salina al 0,85% entre diez y veinte minutos después de tomada la muestra, evitando que la pérdida de movilidad del parásito, o su distorsión, antes de desintegrarse, impidan su detección. Ésta es una prueba rápida, económica y con una sensibilidad del 60% al 70%, en la que un resultado negativo no es suficiente para descartar la tricomoniasis y que requiere además de personal experto (1,2,26).

El método de elección para el diagnóstico es el cultivo, teniendo en cuenta que su sensibilidad está entre el 85% y el 95% y su especificidad es superior al 95%; su desventaja es que los parásitos tardan entre tres y siete días para crecer y dentro de los medios más conocidos está el de Diamond. En este punto es importante tener en cuenta que si se trata de hombres, cuyas infecciones pueden ser de escasa sintomatología, la sensibilidad del cultivo baja, mucho más en ausencia de uretritis (31). La tinción de Papanicolacau, aunque permite visualizar los parásitos, no se recomienda como método diagnóstico debido a su baja sensibilidad (1,2,26).

Un experimento con ratones demostró que no es recomendable diagnosticar la infección mediante métodos indirectos, ya que la cantidad de

anticuerpos *anti-Trichomona* guarda una relación directamente proporcional a la presentación clínica de la enfermedad, lo que indicaría que en casos no tan sintomáticos, los anticuerpos difícilmente se detectarían y se reportarían falsos negativos. De realizarse en humanos, estos experimentos serían más concluyentes (32).

Hay publicaciones que reportan la detección de antígenos parasitarios en las secreciones con sensibilidad y especificidad similares a las del cultivo, pero con la ventaja de tan solo diez minutos en la obtención del resultado (1,26). En un estudio realizado en Cuba con 1.129 exudados vaginales se demostró una sensibilidad del 98% para una prueba rápida con anticuerpos adheridos a partículas de látex, la cual se podía realizar en el momento de la consulta, permitiendo iniciar de inmediato el tratamiento (33).

Los métodos diagnósticos basados en métodos moleculares a pesar de su alta sensibilidad y especificidad resultan poco adsequibles en nuestro medio, por los altos costos y la infraestructura técnica que requieren. La detección del DNA parasitario, usada también en el diagnóstico de vaginitis por *Cándida sp.* y *Gardnerella vaginalis* tienen alta especificidad y sensibilidad y las mismas limitaciones que las pruebas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa para detectar antígenos. En un estudio publicado recientemente en el que se evaluaba tricomoniasis en compañeros sexuales de mujeres infectadas se pudo establecer que la sensibilidad la PCR mostraba una sensibilidad hasta del 98%, comparada con un 22% del cultivo y que para éste último, en el que muchas veces una sola muestra no es suficiente para establecer el diagnóstico, la sensibilidad se incrementaba si había uretritis (31).

## TRATAMIENTO

El tratamiento recomendado para las infecciones por *T. vaginalis* es el metronidazol (MNZ), medicamento que cura más del 90% de las infecciones, en un régimen de siete días o con una sola dosis de dos gramos (1,3,25). Durante el embarazo no se recomienda el uso de metronidazol por sus efectos teratogénicos, sin embargo puede utilizarse en el último trimestre, cuando la madre presente complicaciones, o ante la posibilidad de infección perinatal para el bebé (24).

El MNZ ingresa al trofozoito por difusión pasiva y en el hidrogenosoma es reducido por acción de la ferredoxín-óxido-piruvato-reductasa (PFOR), formándose radicales citotóxicos que rompen el DNA y promueven la salida de fosfatos de timidina. Sin embargo, se estima que en el 2,5% al 5% de los aislados de *T. vaginalis* ya ha desarrollado un nivel de resistencia al MNZ, observado en la familia de los 5-nitroimidazoles, que utilizan vías metabólicas similares. Esta resistencia suele deberse a inactivación de la PFOR, ya sea por competencia del oxígeno por el hidrógeno (en aerobiosis), o por activación de las oxidasas del hidrogenosoma (en anaerobiosis), que impiden la activación del fármaco (23).

Recientemente se ha planteado la posibilidad de que la resistencia al metronidazol puede estar ligada a la presencia de *M. hominis* pues en un estudio realizado en China con muestras provenientes de pacientes y a los que se les realizó ensayos de susceptibilidad al medicamento, se encontró disminuida susceptibilidad o alta resistencia a la dosis mínima letal, en todos los casos en que se demostraba la presencia de la bacteria (34).

El tinidazol, un fármaco de segunda generación con actividad efectiva en dosis de dos gramos, presenta el doble de vida media plasmática que el metronidazol y se ha utilizado con éxito en casos de cepas resistentes, con pocos efectos colaterales (1,24).

La administración del fármaco elegido puede ser por vía oral, intravenosa o tópica, aunque en esta última se debe tener en cuenta que el moco cervical no permite una adecuada penetración, por lo cual su efecto no es el mejor. En algunas ocasiones y para obtener mejores resultados, se utiliza la vía oral o intravenosa conjugada con la tópica (1, 24).

Estudios recientes próximos a publicarse revelan que la nitazoxanida, un fármaco antiparasitario de amplio espectro, actúa como inhibidor de la piruvato ferredoxín-flavodoxín oxidoreductasa de *T. vaginalis* y de otros protozoos anaerobios, pero utilizando una vía diferente a la del metronidazol, lo que implicaría ausencia de los mecanismos de resistencia descritos hasta la fecha, hecho que permitiría proponer este medicamento como posible alternativa de tratamiento (35).

## CONCLUSIONES

La tricomoniasis no ha tenido la relevancia suficiente en el ámbito de la salud pública, ni se le ha dado la importancia suficiente en el contexto epidemiológico de las enfermedades de transmisión sexual, a pesar de su gran incidencia desde hace más de cuatro décadas. Teniendo en cuenta que se trata de un parasitismo que predispone a padecer otras enfermedades y a ocasionar complicaciones en el embarazo, tanto por si mismas, como por las infecciones bacterianas que favorece, es recomendable su oportuno diagnóstico, su control con medicamentos y el desarrollo de campañas educativas orientadas a su prevención. Si bien es cierto que las moléculas y enzimas de los parásitos se han definido como promotoras de la adhesión, de la colonización, de la destrucción de las células del huésped y de la evasión de la inmunidad, algunas de ellas y por mecanismos indirectos, están involucradas en la adquisición y mantenimiento de otras infecciones, que en este caso concreto de *T. vaginalis* es nada menos que el virus del sida, una de las más devastadoras infecciones del mundo moderno.

## REFERENCIAS

1. Soper D. Trichomoniasis: under control or undercontrolled?. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2004;190:281-90.
2. Schwebke J, Burgess D. Trichomoniasis. Clinical Microbiology Reviews. 2004;17:794-803.
3. Dunne R, Dunn L, Upcroft P, O'donoghue P, Upcroft J. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. Cell Research. 2003;13:239-249.
4. Kucknoor A, Mundodi V, Alderete J. *Trichomonas vaginalis* adherence mediates differential gene expression in human vaginal epithelial cells. Cellular Microbiology. 2005;10:1462-5822.
5. Kucknoor A, Mundodi V, Alderete J. Adherence to human vaginal epithelial cells signals for increased expression of *Trichomonas vaginalis* genes. Infection and Immunity. 2005;73:6472-6478.
6. Botero D, Restrepo M. Parasitosis humanas. 4ª edición. Ed. Corporación para investigaciones biológicas. 2004: 294-297.
7. Lal K, Noel C, Field M, Goulding D, Hirt R. Dramatic reorganisation of *Trichomonas* endomembranes during amoebal transformation: A possible role for G- proteins. Molecular and Biochemical Parasitology. 2006;148: 99-102.
8. Jesús J, Vannier-Santos M, Britto E. *Trichomonas vaginalis* virulence against epithelial cells and morphological variability: the comparison between a well-established strain and a fresh isolate. Parasitology Research. 2004;93:369-77.
9. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. Clinical Microbiology Reviews. 1998;11: 300-317.

10. Moreno-Brito V, Yáñez-Gómez C, Meza-Cervantes P, Ávila-González L, Rodríguez M, Ortega-López J, et al. A *Trichomonas vaginalis* 120kDa protein with identity to hydrogenosome pyruvate: ferredoxin oxidoreductase is a surface adhesin induced by iron. *Cellular Microbiology*.2005;7:245-258.
11. Madeiro da Costa R, Souza W, Benchimol M, Falderete J, Morgado-Diaz J. *Trichomonas vaginalis* perturbs the junctional complex in epithelial cells. *Cell Research*.2005;15:704-716.
12. Carvalho S, Freitas D, Murad A, Franco O, Simoes-Barbosa A. *Trichomonas vaginalis*: Identification of a triacylglycerol acylhydrolase. *Experimental Parasitology*.2005;111:260-263.
13. Alderete J, Nguyen J, Mundodi V, Lehker M. Heme-iron increases levels of AP65-mediated adherence by *Trichomonas vaginalis*. *Microbial Pathogenesis*.2004;36:263-271.
14. Kucknoor A, Mundodi V, Alderete J. Heterologous expression in T. Foetus of functional T. Vaginalis AP65 adhesin. *MBC Molecular Biology*.2005;10:1-13.
15. Lubick K, Burgess D. Purification and analysis of a phospholipase A2-Like lytic factor of *Trichomonas vaginalis*. *Infection and Immunity*.2004;72:1284-1290.
16. Mundodi V, Kucknoor A, Chang T, Alderete J. A novel surface protein of *Trichomonas vaginalis* is regulated independently by low iron and contact with vaginal epithelial cells. *BMC Microbiology*. 2006;10:1-12.
17. Malla N, Valadkhani Z, Harjai K, Sharma S, Gupta I. Reactive nitrogen intermediates in experimental trichomoniasis induced with isolates from symptomatic and asymptomatic women. *Parasitology Research*.2004;94:101-105.
18. Hernández H, Sariego I, Garber G, Delgado R, López O. Monoclonal antibodies against a 62 KDa proteinase of *Trichomonas vaginalis* decrease parasite cytoadherence to epithelial cells and confer protection in mice. *Parasites Immunology*.2004;26:119-125.
19. Ryu J, Kang J, Jung S, Shin M, Kim J, Park H, et al. Production of interleukin-8 by human neutrophils stimulated with *Trichomonas vaginalis*. *Infection and Immunity*.2004;72:1326-1332.
20. Kaul P, Gupta I, Sehgal R, Malla N. *Trichomonas vaginalis*: random amplified polymorphic DNA analysis of isolates from symptomatic and asymptomatic women in India. *Parasitology International*.2004;53:255-262.
21. Chang J, Ryang Y, Morio T, Lee S, Chang E. *Trichomonas vaginalis* inhibits proinflammatory cytokine production in macrophages by suppressing NF- $\kappa$ B activation. *Molecules and Cells*.2004;18:177-185.
22. Ryang Y, Chang J, Park J. Involvement of MAP kinases in apoptosis of macrophage treated with *Trichomonas vaginalis*. *Yonsei Medical Journal*.2004;45:751-754.
23. Sarti P, Fiori P, Rappelli P, Teixeira M, Mastronicola D, Sanci G, et al. *Trichomonas vaginalis* degrades nitric oxide and expresses a flavoribredoxin-like protein: a new pathogenic mechanism?. *Cellular and Molecular Life Sciences*.2004;61:618-623.
24. Cudmore S, Delgaty K, Hayward-McClelland S, Petrin D, Garber G. Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Clinical Microbiology Reviews*.2004;17:783-793.
25. Mandell G, Bennett J, Douglas G, Dolin R. *Enfermedades infecciosas: principios y práctica*. *Trichomonas vaginalis*. Buenos Aires: Medica Panamericana.2002;2:3495-3505.
26. Swygard H, Seña A, Habbs M, Cohen M. Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis and management. *Tropical medicine series*.2004;80:91-95.
27. Guenther P, Secor W, Dezzutti C. *Trichomonas vaginalis*-induced epithelial monolayer disruption and human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) replication: implications for the sexual transmission of HIV-1. *Infection and Immunity*.2005;73:4155-4160.
28. Dessi D, Delogu G, Emonte E, Catania M, Fiori P, Rappelli P. Long-term survival and intracellular replication of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* cells: potential role of the protozoon in transmitting bacterial infection. *Infection and Immunity*.2005;73:1180-1186.
29. Dessi D, Rappelli P, Diaz N, Cappuccinelli P, Fiori PL. *Mycoplasma hominis* and *Trichomonas vaginalis*: a unique case of symbiotic relationship between two obligate human parasites. *Front Biosci*.2006;11:2028-34.
30. Hobbs M, Lapple D, Lawing L, Schwebke J, Cohen M, Swygard H, Atashili J, Leone P, Miller W, Seña A. Methods for Detection of *Trichomonas vaginalis* in the Male Partners of Infected Women: Implications for Control of Trichomoniasis. *Journal of Clinical Microbiology*.2006;44:3994-99.
31. Yadav M, Gupta J, Malla N. Kinetics of immunoglobulin G; M; A y IgG subclass responses in experimental intravaginal Trichomoniasis: prominence of IgG1 response. *Parasite Immunology*.2005;27:461-467.
32. Manciques I, Alonso M. Diagnóstico y síntomas clínicos de la tricomoniasis vaginal. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*.2002;28:2.
33. Xiao JC, Xie LF, Fang SL, Gao MY, Zhu Y, Song LY, Zhong HM, Lun ZR. Symbiosis of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* may link metronidazole resistance in vitro. *Parasitology Research*.2006;100(1):123-130
34. Pararas MV, Skevaki CL, Kafetzis DA. Preterm birth due to maternal infection: Causative pathogens and modes of prevention. *European Journal of Clinical Microbiological Diseases*.2006;25(9):562-9
35. Pararas MV, Skevaki CL, Kafetzis DA. Antiparasitic Drug Nitazoxanide Inhibits the Pyruvate Oxidoreductases of *Helicobacter pylori* and Selected Anaerobic Bacteria and Parasites, and *Campylobacter jejuni*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2006; *In press*.

## RESEÑA DE UN EXALUMNO DESDE EL EXTERIOR

ANDRÉS MENESSES DÍAZ, MD, ND.

Cuando se piensa en grande se llega lejos. Siempre hemos creído que no hay límites en la vida y que todo lo que una persona se propone realizar, con la convicción de que se puede lograr, termina convirtiéndose en realidad.

Me gradué en diciembre de 1994 y como cualquier estudiante de medicina, después de haber pasado noches muy largas haciendo turnos de internado y estudiando para presentar exámenes, tenía muchas metas y deseos de cambiar el mundo. El gran día de la graduación llegó y era tiempo de continuar el camino por mi mismo. Me despedía del alma máter que me había visto nacer y crecer profesionalmente y les debía decir adiós a los entrañables amigos que me habían acompañado durante seis inolvidables años.

Siempre tuve la idea de especializarme en el exterior y particularmente en los EE.UU. Gracias a mi padre, piloto de la Fuerza Aérea, había tenido la oportunidad de viajar por muchos países, conocer diversas culturas y observar el mundo como una sola unidad sin fronteras y sin límites. Fue así como una vez terminado mi rural, empaqué maletas y me embarqué hacia Texas en los EE.UU., buscando hacer realidad mis sueños.

Como desde mi internado y durante el año rural había enviado varias cartas a diferentes universidades solicitando un cupo para hacer un post doctorado y no obtuve ninguna respuesta positiva, decidí viajar para buscar directamente la posición que ambicionaba.

Ya ubicado en Houston empecé a trabajar en lo que podía, dedicando la mayoría de horas disponibles a estudiar en la biblioteca del Centro Médico de Houston y a preparar los exámenes de la licencia médica, los famosos USMLE (United States Medical Licensing Examination). El Centro Médico de Houston es el complejo hospitalario más grande del mundo y en donde se ubican los hospitales número uno en las especialidades de Oncología, Neurociencias, Urología, Pediatría y Cardiología, entre otros. Allí se encuentran integrados los labo-

ratorios de investigación en las diferentes especialidades, hasta el punto de convertirse también, en la organización investigativa más grande del mundo.

En la biblioteca conocí a varios médicos y entre ellos, a uno que estaba haciendo un fellow en Urología y a quien le conté sobre mi interés en la investigación, con la suerte que me invitó a conocer el laboratorio en donde trabajaba y me relacionó con sus jefes. Tuve la fortuna de que me invitaran a participar como observador en sus proyectos; poco a poco fui involucrándome hasta el punto que aprendí las técnicas básicas de biología molecular, de tal manera que terminé colaborando directamente en los estudios que se estaban llevando a cabo.

Lo anterior me implicó un esfuerzo adicional: durante el día trabajaba en una clínica como asistente médico del director con el fin de sostenerme y en las noches, trabajaba en el laboratorio desarrollando un proyecto dedicado a identificar marcadores tumorales en tejidos de pacientes con cáncer de próstata y vejiga.

Así trabajé durante cerca de dos años, buscando desarrollar la técnica más adecuada para identificar tales marcadores. Este no fue un trabajo fácil y dos investigadores habían tenido que renunciar como consecuencia de múltiples intentos fallidos. Finalmente, después de repetir una y otra vez la misma técnica, a consecuencia de un pequeño error sucedió algo sorprendente. Por curiosidad, había puesto los tejidos en el microondas más tiempo de lo estipulado y al terminar la coloración, creyendo que todo iba a salir mal, al mirar por el microscopio observé una imagen nítida de los receptores en el tejido. A pesar de que eran las dos de la mañana, el hallazgo fue tan importante que a esa hora me comuniqué con el investigador principal, quien a pesar de la hora, vino a confirmar los hallazgos. A partir de ese día, las fichas de los diferentes rompecabezas en que había estado enfrascado empezaron a encajar en su sitio, al punto que pudimos publicar más de siete artículos en revistas especializadas en cáncer y urología.

Gracias a ello obtuve una excelente carta de recomendación que me abrió las puertas para comenzar un fellow posdoctoral en terapia génica en la Universidad de Baylor. Paradójicamente y para mi sorpresa, mi jefe sería el mismo que años atrás me había enviado una carta rechazando mi solicitud para trabajar en su departamento.

Con el transcurso del tiempo fui nombrado presidente y representante de la organización que agrupa a los Ph.D y médicos en el programa de fellows posdoctorales del Colegio de Medicina de Baylor y como vicepresidente del comité de minorías profesionales de la misma Universidad. Durante ese tiempo también pude adelantar estudios de Medicina Alternativa e Integrativa en Capital University of Integrative Medicine en la ciudad de Washington, D.C, con sede en Georgetown University y actualmente soy el encargado de los proyectos de investigación de enfermedades congénitas cardiovasculares y dirijo la Clínica de Genética Cardiovascular en el Texas Children's Hospital, que es el más grande hospital infantil de

Norteamérica y, al mismo tiempo, ejerzo mi práctica privada como médico en Medicina Integrativa.

Es así como he venido escalando peldaños en el desarrollo de mi actividad profesional y personal. Sé que me quedan otros más por ascender, pero tengo la certeza de que llegaré a donde me he propuesto llegar porque gracias a Dios cuento con la formación que recibí en mi país, de la cual me siento orgulloso y porque tuve la gran fortuna de pasar por la Escuela Militar de Medicina, hoy en día Facultad de Medicina de la Universidad Militar Nueva Granada.

Deseo resaltar que mis modestos logros no son más que una muestra representativa de lo que cada uno de los profesionales de nuestra universidad puede hacer. Debo agradecer a los profesores por sus enseñanzas y la mística que me inculcaron, a mis padres por el afán de superación y responsabilidad, a mis compañeros por las horas gratas que viví con ellos y en general a la Universidad Militar Nueva Granada, por la formación y el temple que me brindó.

## ENTORNO

MAYERLI RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, PAUL RAINER GIS

Entorno es un espacio creado con el fin de difundir información de interés a la comunidad académica, como lo son congresos, simposios, convenciones, cursos, etc., próximos a realizar y temas de interés para los estudiantes y profesionales de la salud como el internado, el año rural y la legislación médica, entre otros.

Sus sugerencias, preguntas y temas para tratar en esta sección pueden ser enviadas al correo electrónico [semilleros.med@umng.edu.co](mailto:semilleros.med@umng.edu.co)

- **V SIMPOSIO INTERNACIONAL DE CARDIOLOGÍA**

Febrero 16 al 18 de 2007  
Lugar: Medellín  
Informes: Sociedad Colombiana de Cardiología  
Av 9 N° 126-18 Ofic. 201-202 Bogotá.  
Tels 253 0012 - 253 0044 [www.scc.org.co](http://www.scc.org.co)

- **XII CONGRESO MEDICINA CRÍTICA Y CUIDADO INTENSIVO**

Marzo 16 al 18 de 2007  
Lugar: Bogotá  
Informes: Asociación Colombiana de Medicina Crítica y Cuidado Intensivo  
Cra 15 N° 104-76 Ofic. 208. Tel: 215 0990  
e-mail: [asocrit@cable.net.co](mailto:asocrit@cable.net.co)

- **XI CURSO BIENAL DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA**

Abril 26 al 28 de 2007  
Lugar: Bogotá, Centro de Convenciones Gonzalo Jiménez de Quesada  
Informes: Asociación Bogotana de Obstetricia y Ginecología. Federación Colombiana de Asociaciones de Obstetricia y Ginecología

- **XVI CONGRESO INTERNACIONAL DE DOLOR**

Abril 28 al 30 de 2007  
Lugar: Bogotá  
Informes: Asociación Colombiana para el Estudio del Dolor  
Calle 134 N° 13-83 Ofic. 715. Tel: 627 1897  
e-mail: [dolor@cable.net.co](mailto:dolor@cable.net.co)

- **XXI CONGRESO ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE MEDICINA/AMERICAN COLLEGE OF PHYSICIANS**

20 al 22 de septiembre de 2007  
Lugar: Barranquilla  
Informes: Asociación Colombiana de Medicina Interna  
Cra 16A N° 77-11 Ofic. 204. Tel: 236 8682 - 8994. [www.acmi.org.co](http://www.acmi.org.co)  
e-mail: [acminal@etb.net.co](mailto:acminal@etb.net.co)

Desde el primero de diciembre de 2006 los estudiantes de XI semestre iniciaron su año de internado en las diferentes plazas, las cuales se otorgan de acuerdo a varios criterios, entre ellos el interés específico del estudiante, el promedio general acumulado, el cupo disponible para cada plaza, los convenios de la universidad con diferentes clínicas y hospitales, entre otros.

El estudiante escoge su plaza según sus expectativas respecto al año de internado, ya que hay plazas que son más prácticas, otras más académicas, algunas manejan más las ciencias quirúrgicas, otras las clínicas, etc.

El promedio general acumulado es de suma importancia ya que quienes obtengan los mejores promedios tendrán derecho a elegir su plaza y, a medida que se van llenando los cupos disponibles, los demás estudiantes se deben ubicar en los sitios de rotación restantes.

Se deben realizar las cuatro rotaciones correspondientes a ciencias clínicas básicas: medicina interna, cirugía, pediatría y ginecología y obstetricia, que abarcan un semestre del año de internado; en los otros seis meses se podrá, según la elección del estudiante y disponibilidad de plazas, repetir las rotaciones básicas o elegir rotaciones de especialidades como otorrinolaringología, oftalmología, ortopedia, dermatología, etc.

Si las plazas disponibles no llenan las expectativas del estudiante, éste puede ubicar una plaza de rotación diferente a las propuestas por el programa, siempre y cuando el estudiante realice el trámite pertinente, previa aceptación y respaldo de la universidad. Otras especificaciones como costos, calidad académica del hospital, deben ser valorados en cada caso particular.

A continuación presentamos las plazas de internado en las cuales nuestros estudiantes de último año de medicina están rotando y el número actual de internos:

### INTERNOS XI 2007-1

Hospital Militar Central	5
Hospital Naval de Cartagena	8
Hospital Occidente de Kennedy	2
Hospital Militar de Oriente (Apiay)	4
Hospital de Meissen	12
Hospital San Juan de Dios de Zipaquirá	4

Hospital San Rafael de Facatativá	5
Fundación Cardio Infantil	2
Fundación Santa fé de Bogotá	1
Hospital Clínica San Rafael	6
Internado especial en la CIB de Medellín	1

Esta última plaza se tramitó por un interés propio y por la capacidad investigativa del estudiante y fue aceptada por el jefe de la Unidad de Inmunogenética de la Corporación para Investigaciones Biológicas de Medellín (CIB).

Algunas instituciones a pesar de tener convenio con la Universidad, establecen sus propios criterios de selección como son la Fundación Santa Fé de Bogotá y la Fundación Cardio-Infantil, el proceso consiste en un examen de conocimientos y una entrevista. Vale la pena destacar que en las últimas convocatorias realizadas en la Fundación Cardio-Infantil, todos los aspirantes de nuestra facultad fueron aceptados.

### INTERNOS XII 2007-1

Hospital Militar Central	21
Hospital San Juan de Dios	2
Fundación Santa fé de Bogotá	1

La decisión de escoger la plaza de internado requiere mucha responsabilidad, ya que además de sentirnos a gusto con un sitio en particular, se debe tener en cuenta que es el último período de práctica supervisado antes de enfrentarnos al rural y a la práctica médica misma.

## PACIENTE IMAGINARIO

ÓSCAR ORTEGA HERNÁNDEZ

Paciente imaginario es una sección en la cual es presentado un caso clínico con los datos de la historia clínica completa, en algunos se incluye manejo y se plantean diferentes preguntas respecto al caso como diagnóstico, diagnóstico diferencial, conducta de manejo, entre otras; el objetivo es que los estudiantes realicen un ejercicio de análisis exhaustivo del caso tal y como si fuera su paciente, desarrollando habilidades analíticas y de comprensión de lectura, poniendo en práctica todo lo aprendido.

Para el o los estudiantes que desarrollen el mejor análisis del caso clínico junto al diagnóstico y diagnósticos diferenciales, enviado al e-mail [semilleros.med@umng.edu.co](mailto:semilleros.med@umng.edu.co) les será otorgado un premio sorpresa. Las respuestas y la observación respectiva de este paciente imaginario serán publicadas en nuestra siguiente edición.

### HISTORIA CLÍNICA

Paciente masculino, 32 años de edad, soldado voluntario.

**Motivo de consulta:** Dificultad para respirar.

**Enfermedad actual:** Cuadro clínico de 10 semanas de evolución consistente en astenia, adinamia y deterioro progresivo de la clase funcional hasta III/IV, una semana después IV/IV, ortopnea, disnea paroxística nocturna, tos productiva ocasionalmente purulenta, y hemoptoica refiere pérdida de peso asociada no cuantificada.

**Antecedentes:** Patológicos: artritis piógena diagnosticada y tratada hace dos años con Oxacilina e Ibuprofeno. Toxicológico: niega tabaquismo, niega uso de sustancias psicoactivas. Familiares: negativos. Epidemiológicos: vivió en casa de baraque hace tres meses, reconoce los "pitos". ETS: niega.

**Revisión por sistemas:** Pérdida de peso de dos meses de evolución, fiebre ocasional no cuantificada sin patrón claro, bajo rendimiento en pruebas físicas

por intolerancia al ejercicio, tos descrita, niega adenopatías, dolor abdominal, alteraciones gastrointestinales, lesiones en piel o artralgias.

**Examen físico de ingreso:** Paciente de raza negra. Signos vitales: FC: 120 latidos por minuto, TA: 110/60mmHg FR: 28 respiraciones por minuto, Temperatura: 36.5° C; mucosa oral húmeda, presenta ingurgitación yugular GI, no presenta adenopatías; ruidos cardiacos taquicárdicos, soplo sistólico GIII/VI en foco tricúspideo y aórtico accesorio; ruidos respiratorios disminuidos en base pulmonar izquierda, no estertores; abdomen blando depresible sin presencia de hepatomegalia ni esplenomegalia, ruidos intestinales normales; extremidades eutróficas, sin edemas, perfusión distal adecuada; paciente alerta conciente orientado no déficit motor ni sensitivo evidentes.

### Exámenes paraclínicos de ingreso:

Hemoglobina:	11,7 mg/dl
Hematocrito:	36,7%
Leucocitos:	9600 cel/ml
Neutrófilos:	64 %
Linfocitos:	25 %
Monocitos:	6 %
Plaquetas:	292000 cel/ml
Hipocromía y microcitosis	

BUN:	17.7 mg%
Creatinina:	1,2 mg/dl
Baciloscopia:	Negativa

**Rayos X de Tórax:** Cardiomegalia Grado II, líquido en cisuras, redistribución del flujo pulmonar, derrame pleural izquierdo, no presenta otros hallazgos adicionales.

- Establezca cinco posibles diagnósticos diferenciales, justifíquelos.
- Señale laboratorios adicionales que usted considere se deben solicitar de acuerdo a los datos suministrados.
- Señale su manejo inicial en urgencias.

## ANÁLISIS Y MANEJO INICIAL

Paciente joven masculino con deterioro de la clase funcional previa normal asociado a disnea, ortopnea, hemoptisis, pérdida de peso, fiebre sin patrón claro, taquicardia, soplo cardiaco y evidencia radiológica de crecimiento global de cavidades, antecedentes epidemiológicos y procedencia de zona endémica, niega otros antecedentes de importancia en su enfermedad actual.

Es hospitalizado y se inicia oxígeno, restricción hídrica, Furosemida IV, Captopril, Enoxaparina, orden de curva térmica, hemocultivos durante pico febril, profilaxis antiembólica y traslado a pisos.

- Señale sus diagnósticos de trabajo propuestos de acuerdo al análisis del caso y si considera apropiado el manejo inicial realizado en urgencias.

Paciente revalorado en 28 pisos con signo vitales: FC: 90; TA: 120/70; FR: 28°C; T°: 37°C. Peso: 63kg, ortopnea, soplo sistólico GIII/VI en focos de la punta, predominio mitral, que borra S1 irradiado a la axila, ausencia de fiebre, no edemas.

### **Ecocardiograma transesofágico Doppler:**

**Ventrículo izquierdo:** Diámetros y volúmenes en límite superior de normalidad, paredes anormalmente engrosadas, masa ventricular total (150 g/m<sup>2</sup>), disfunción diastólica compatible con patrón restrictivo, incremento de la trabeculación del ventrículo y de la refringencia del miocardio.

**Aurícula Izquierda:** Dilatación severa (5.9), no hay presencia de masas ni trombos intracavitarios.

**Válvula mitral:** Valvas difusamente engrosadas, imagen sugestiva de infiltración de 2 cm. en valva anterior, prolapso de valva anterior, aparato subvalvular y anillo normales. Prolapso anterior, regurgitación excéntrica, con importante efecto coanda que alcanza el techo de la aurícula, área jet regurgitante 8,5 cm<sup>2</sup> con flujo reverso positivo en venas pulmonares.

**Ventrículo derecho:** Normal.

**Aurícula derecha:** Normal.

**Válvula tricúspide:** Normal, mínima regurgitación PSAP 65 mm/Hg.

**Válvula Aórtica:** Normal.

**Pericardio:** Normal, no presenta derrame.

- Establezca los problemas de trabajo que dificultan el diagnóstico.
- Analice si los datos de hospitalización y ecocardiográficos cambian el panorama diagnóstico.
- Elabore su enfoque clínico y paraclínico.
- Determine el manejo farmacológico en este caso.

**Evolución:** Paciente quien presenta disminución de tos y disnea, afebril, tensiones arteriales promedio 90/60. Manejo con Enalapril 5mg/día como única modificación al manejo inicial; serología para chagas negativa, baciloscopia negativa, hemocultivos negativos.

**Valoración por cardiología:** Insuficiencia mitral severa, hipertensión pulmonar moderada, insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) clase funcional II/IV, síndrome anémico, adicionan Metoprolol 25mg/día, Mononitrato de Isosorbide 10mg cada 12h; sugieren la posibilidad de biopsia endomiocárdica, solicitan electrocardiograma (EKG) de señal promediada, Test Holter y ferrocínica.

Ante la sospecha de proceso infiltrativo se consideró la realización de otros estudios diagnósticos por poca probabilidad de compromiso miocárdico exclusivo por lo cual se solicitó biopsia de grasa abdominal, mucosa oral, proteinuria de 24 horas.

- Qué criterios señalan en este caso la posibilidad de realizar biopsia endomiocárdica.
- Qué procesos infiltrativos pueden considerarse en el diagnóstico diferencial y cómo realizar su enfoque.
- Qué indicaciones tiene el paciente para la realización de estudio Holter, EKG de señal promediada y cuál es su utilidad en este caso.
- Realice su aproximación diagnóstica al síndrome anémico.
- Determine indicaciones del manejo farmacológico instaurado por cardiología.

**Test Holter:** Ritmo sinusal, aplanamiento patrón circadiano y variabilidad R-R severamente deprimida, QTc prolongado en todas las frecuencias, QTc máximo 527mseg.

EKG de señal promediada anormal con criterios 3/3 para muerte súbita.

Reporte de biopsia negativo para enfermedad infiltrativa sospechada. Se decide programar para biopsia endomiocárdica.

**Interconsulta hemodinamia:** Paciente con diagnóstico de proceso infiltrativo endomiocárdico de etiología a establecer. Signos vitales: TA:100/60; FC: 80; FR: 16; Pico febril (37,8°C) aislado sin causa aparente por lo cual no se realiza el procedimiento.

Hemoglobina: 10,7mg/dl  
 Hematocrito: 34%  
 Leucocitos: 9150cel/mm<sup>3</sup>  
 Neutrófilos: 50%  
 Linfocitos: 33.9%  
 Monocitos: 6%  
 Plaquetas: 368000 cel/mm<sup>3</sup>  
 Hipocromía y microcitosis

- Establezca de acuerdo a los datos la severidad del proceso.
- Considere otra imagen diagnóstica dinámica complementaria útil en este caso.
- Conducta con respecto al pico febril que presentó el paciente.
- Biopsia extracardiaca negativa para proceso infiltrativo, que conducta asume con respecto a sus diagnósticos.

Se solicitan nuevos hemocultivos reportados como negativos, no presenta picos febriles adicionales. Se solicitó ventriculograma que reporta fracción de eyección de 60%, aurícula izquierda aumentada de tamaño. Aortograma: Plano aórtico deformado con imagen hipercaptante del medio de contraste compatible con absceso de anillo aórtico, insuficiencia aórtica grado II, hipertensión pulmonar severa, hipertensión venocapilar severa.

**Ecocardiograma transesofágico Doppler:**

1. Imágenes sugestivas de abscesos múltiples en plano valvular mitral y rafe mitroaórtico.
2. Insuficiencia mitral severa con perforación de valva anterior e imagen de vegetación.
3. Enfermedad infiltrativa de válvula mitral.
4. Hipertensión pulmonar severa.
5. Insuficiencia aórtica grado II.

6. Dilatación aurícula izquierda
7. Derrame pericárdico 250 cc.

**Hemocultivos:** Gérmenes comunes y de crecimiento lento.

Se inicia tratamiento con Vancomicina/Gentamicina, Digital, monitoria EKG, paraclínicos.

Hemoglobina: 9,2 mg/dl  
 Hematocrito: 28.8%  
 Leucocitos: 9400 cel/mm<sup>3</sup>  
 Neutrófilos: 71%  
 Linfocitos: 23%  
 Monocitos: 6%  
 Plaquetas: 396000 cel/mm<sup>3</sup>  
 VSG: 51 mm.h  
 PCR: 6

Hipocromía y microcitosis

- Paciente quien a pesar de evolución clínica estable presenta deterioro evidente en ecocardiograma. Cuáles posibilidades diagnósticas deben considerarse.
- Analizando las imágenes ecocardiográficas cuales diagnósticos diferenciales son compatibles con los hallazgos.
- Determine si el manejo antibiótico está indicado y si considera el esquema adecuado.

**Evolución:** paciente taquicárdico hipotenso, con deterioro de la función renal (Creatinina 5,6mg/dl; BUN 46,5mg%), se realiza restricción hídrica, persiste hipotenso, es llevado a hemodiálisis, se logra estabilidad hemodinámica, permanece afebril, clase funcional estable, continúa tratamiento antibiótico ajustado a función renal.

**Valoración por Cirugía Cardiovascular:** paciente con descompensación hemodinámica aguda e insuficiencia renal, por lo cual consideran requerimiento de dos prótesis valvulares y parches, siendo un procedimiento de alto riesgo quirúrgico por el estado actual del paciente.

**Reporte de Hemocultivos:** negativo para gérmenes comunes, Brucella abortus negativo, se solicita serología para Coxiella.

Paciente con mejoría, tolera diálisis, volúmenes urinarios adecuados.

**Evolución:** Signos vitales: FC: 109 x min; TA: 90/60 mmHg; FR: 18 x min. A febril. Paciente con tos y disnea moderados; soplo sin cambios. Balance negativo: (-) 50; diuresis: 0,7 cc/Kg/hora.

Al día siguiente presenta paro cardiorrespiratorio, se le realiza reanimación cerebro cardio pulmonar (RCCP), ritmo sinusal, segundo paro a los 7 minutos, traslado a la unidad de cuidados intensivos coronarios (UCIC), reanimación adecuada, se estabiliza durante una hora, nuevo episodio de hipotensión y

bradicardia, colocación de marcapasos transitorio, maniobras de reanimación por 40 minutos, no responde, finalmente fallece.

- *De acuerdo a la evolución del paciente, cuál es su diagnóstico final como causa de muerte.*
- *Los hemocultivos negativos fueron una constante en este caso, cuál es su apreciación al respecto.*
- *Señale su apreciación personal y cuáles modificaciones al enfoque realizado, haría usted.*

## GUÍA PARA LOS AUTORES

El Comité de publicaciones de la revista **Semilleros Med** establece las directrices en cuanto al formato que deben contemplar los manuscritos enviados a esta revista. Las siguientes recomendaciones para los articulistas fueron elaboradas y adaptadas con base en guías internacionales ampliamente reconocidas de: *International Committee of Medical Journal Editors 2006*, *Students Biomedical Journal 2000*, *World Association of Medical Editors* y Normas *Vancouver - Actualización 2005*. Su objetivo es proporcionar una ayuda estructurada durante la elaboración de un artículo.

### RECOMENDACIONES PREVIAS AL ENVÍO DEL ARTÍCULO

Evitar en definitiva el uso de “copiar y pegar” o la traducción literal de artículos publicados en revistas de otros idiomas, los cuales serán considerados como fraude.

No debe infringirse el derecho a la intimidad de los pacientes, por ello debe contarse con su consentimiento informado. No se publicará información de carácter identificativo en textos, fotografías e historiales clínicos, a menos que dicha información sea esencial desde el punto de vista científico y el paciente (familiares o tutor) haya dado su autorización por escrito para la publicación, el cual debe tener acceso directo al documento original que se pretende publicar. Y no se podrán alterar o falsear datos del paciente para lograr el anonimato.

### REQUISITOS PARA EL ENVÍO DE MANUSCRITOS

- Revise la ordenación del documento: página del título con autor y datos del mismo, resumen con palabras clave en español e inglés, texto (introducción, desarrollo del tema, conclusiones y agradecimientos, si es de pertinencia materiales y métodos, resultados y discusión) y referencias bibliográficas.
- Las tablas, figuras y gráficas con sus respectivas leyendas deben ser realizadas por el articulista, de no serlo debe presentarse adjunto la autorización del autor de la misma ya sea esta tomada de libros, Internet o revistas.
- El texto del artículo se imprimirá en papel blanco, tamaño carta y a una sola cara.

- La entrega de artículos se hará en forma de trabajo impreso, junto a CD etiquetado con formato y nombre de archivo. Debe incluir carpeta de los artículos citados en los dos medios y carta de autoría.
- Conserve una copia de todo el material enviado.

### CARTA DE AUTORÍA

Como requisito indispensable, el artículo debe acompañarse de una carta en la cual el autor principal y todos los coautores expresan claramente que el manuscrito presentado ha sido leído y aprobado por todos para ser enviado a **Semilleros Med**; y se da autorización para la divulgación del mismo en la revista incluyendo la versión electrónica, con protección a sus derechos de autor. Debe aclararse que el artículo no ha sido publicado con anterioridad. Se colocarán los datos personales de los autores incluyendo: nombre completo, documento de identidad, código institucional, nivel académico máximo, teléfono fijo y celular y dirección del correo electrónico.

### AUTORÍA

Para concederle a alguien el crédito de autor, hay que basarse únicamente en su contribución esencial en lo que se refiere a: 1) la concepción y el diseño del estudio, la recolección de los datos, el análisis y/o la interpretación de los mismos; 2) la redacción del artículo o la revisión crítica de una parte sustancial de su contenido intelectual; y 3) la aprobación final de la versión que será publicada. El orden de los autores dependerá de la decisión que de forma conjunta adopten los coautores.

Contenido de la página del título:

1. El título del artículo, el cual debe ser conciso pero informativo.
2. El nombre de cada uno de los autores, acompañados de su grado académico más alto.
3. El nombre de la ciudad, seguida por departamento y país donde se desarrolló el trabajo.
4. La dirección electrónica para correspondencia del autor responsable de la misma.
5. El resumen debe redactarse en español e inglés; no excederá las 150 palabras. En él se indicarán los ob-

jetivos de la revisión o del trabajo de investigación, los materiales y métodos empleados, los resultados más destacados mediante datos concretos y a ser posible, su significación estadística; y las principales conclusiones.

6. Las palabras clave estarán escritas en español e inglés, acompañando el resumen del idioma correspondiente, deben tener un número de 3-10 palabras que faciliten el análisis documental del artículo.

## INTRODUCCIÓN

Se indicará el propósito del artículo y se realizará de forma resumida una justificación del estudio o artículo de revisión. En esta sección del artículo se incluirán las referencias bibliográficas estrictamente necesarias. No se colocarán datos o conclusiones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se describirá con claridad la forma como fueron seleccionados los sujetos sometidos a observación o participantes en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio), con las respectivas variables. En los artículos pertinentes se han de incluir los métodos utilizados para localizar, seleccionar, recoger y sintetizar información.

## TEXTO

El desarrollo y el esquema del artículo dependen del tipo de artículo y sección a la que se destinará, ya sea esta: Artículos Originales, Artículos de Revisión o Casos Clínicos. Debe evitarse el uso de modismos, regionalismos o cualquier variación del idioma que vaya en contra de su buen uso. Los fármacos deben ser mencionados con su nombre genérico; en caso de que el autor lo desee, el nombre comercial debe aparecer entre paréntesis junto al signo ®.

## UNIDADES DE MEDIDA

Las medidas de longitud, talla, peso y volumen se deben expresar en unidades métricas (metro, kilogramo, litro) o sus múltiplos decimales. Las temperaturas se facilitarán en grados Celsius y las presiones arteriales en milímetros de mercurio. Todos los valores de parámetros hematológicos y bioquímicos se presentarán en unidades del

sistema métrico decimal, de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

## ABREVIATURAS

Utilice únicamente abreviaturas normalizadas, aclarando su significado en la primera mención, salvo si se trata de una unidad de medida común. Evite las abreviaturas en el título y en el resumen.

## DISCUSIÓN

Haga hincapié en aquellos aspectos nuevos e importantes del estudio y en las conclusiones que se deriven de ellos. No debe repetir en forma detallada los datos u otras informaciones ya incluidas en los apartados de introducción y resultados. Explique el significado de los resultados, las limitaciones del estudio, así como sus implicaciones en futuras investigaciones. Se compararán las observaciones realizadas con las de otros estudios pertinentes.

## AGRADECIMIENTOS

Incluya la relación de todas aquellas personas que han colaborado pero que no cumplan los criterios de autoría, apoyo general prestado por el jefe del departamento y a quienes brindaron apoyo financiero.

Las personas que hayan colaborado en la preparación del original, pero cuyas contribuciones no justifiquen su acreditación como autores podrán ser citadas bajo la denominación de “investigadores clínicos” o “investigadores participantes” y su función o tipo de contribución debe especificarse, por ejemplo “asesor científico”, “revisión crítica de la propuesta de estudio”, “recogida de datos” o “participación en el ensayo clínico”.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Las referencias o citas bibliográficas constituyen una sección destacada en un trabajo científico. La selección cuidadosa de documentos relevantes, es un elemento que da solidez a la exposición teórica del texto y constituye una importante fuente de información para el lector. El número mínimo de referencias bibliográficas debe ser de 20, de los cuales el 70% ha de corresponder a libros y artículos científicos, el porcentaje restante a

páginas de Internet y demás. Los artículos revisados deben tener una fecha de publicación no anterior al año 2001 en su gran mayoría.

Numere las referencias consecutivamente según el orden en que sean mencionados en el texto, utilizando números arábigos en superíndice y sin paréntesis. Cuando hay más de una cita, éstas deben separarse mediante comas. Si en el texto se menciona un autor, el número de la referencia se pone tras el nombre del autor, al tratarse de un trabajo realizado por más de dos autores, se cita el primero de ellos seguido de la abreviatura “et al” y su número de referencia.

Se recomienda no citar revistas traducidas al español. Es aconsejable recuperar la cita de la versión original, ya que es más fácil localizar la revista, además de resultar el documento original más fidedigno.

Las referencias que se realicen de originales aceptados pero aún no publicados se indicará con expresiones del tipo “en prensa” o “próxima publicación”; los autores deberán obtener autorización escrita y tener constancia que su publicación está aceptada. La información sobre manuscritos presentados a una revista pero no aceptados, cítela en el texto como “observaciones no publicadas”, previa autorización por escrito de la fuente.

### ESQUEMA PARA LAS REFERENCIAS

1. Artículos de Revistas  
Autor/es\*. Título del artículo. Nombre o abreviatura\*\* Internacional de la Revista. Año; Volumen (número\*\*\*): Página inicial-final del artículo.  
Si los autores fueran más de seis, se mencionan los seis primeros seguidos de la abreviatura et al.
2. Libros y monografías  
Autor/es. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; Año.  
Nota: La primera edición no es necesario consignarla. La edición siempre se pone en números arábigos y abreviatura ( 2ª ed.) Si la obra estuviera compuesta por más de un volumen, debemos citarlo a continuación del título del libro.
3. Capítulo de libro  
Autor/es del capítulo. Título del capítulo. En\*: Director/Coordinador/Editor del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; Año. Página inicial-final del capítulo.
4. Organización como autor  
Nombre de la organización. Título de la publicación. Edición. Lugar de publicación: Editorial; Año.
5. Actas de congresos  
Nombre del congreso. Nombre de la ponencia; Fecha de inicio y finalización del evento en números arábigos seguidos del mes y año (12-15 de Noviembre de 2004). Lugar de realización: Asociación o institución organizadora del congreso; año.
6. Comunicación presentada en un Congreso, Jornadas, Simposios o Reuniones Científicas.  
Autor/es de la Comunicación/Ponencia. Título de la Comunicación/Ponencia. En: Título oficial del Congreso. Lugar de Publicación: Editorial; Año. Página inicial-final de la comunicación/ponencia.
7. Monografía en Internet  
Autor/es o Director/Coordinador/Editor. Título [Monografía en Internet]\*. Edición. Lugar de publicación: Editor; Año [Fecha de consulta]. Dirección electrónica.  
\* Puede sustituirse por: [Monografía en línea], [Internet], [Libro en Internet].
8. Sede Web o Página principal de inicio de un sitio Web  
Autor/es. Título [Sede Web]\*. Lugar de publicación: Editor; Fecha de publicación [Fecha de actualización; Fecha de acceso]. Dirección electrónica.  
\* Puede sustituirse por: [Página principal en Internet], [Internet], [Página de inicio en Internet], [Homepage], [Sede Web]
9. Parte de una página de un sitio o sede Web  
Título de la página [Sede Web]\*. Lugar de publicación: Editor; Fecha de publicación [Fecha de actualización/revisión; Fecha de acceso]. Título de la sección [Número de páginas o pantallas]. Dirección electrónica.  
\* Puede sustituirse por: [Página principal en Internet], [Internet], [Página de inicio en Internet], [Homepage], [Sede Web].
10. Base de datos en Internet  
Institución/Autor. Título [Base de datos en Internet]\*. Lugar de publicación: Editor; Fecha de creación, [fecha de actualización; fecha de consulta]. Dirección electrónica.  
\* Puede sustituirse por: [Base de datos en línea], [Internet], [Sistema de recuperación en Internet].