

## Editorial

Los editores de QV estamos muy satisfechos de haber logrado que nuestra publicación electrónica, dedicada a la difusión en español de temas científicos relacionados con la vida y distintos aspectos de la enseñanza de las ciencias exactas, haya podido llegar al número 20. Nuevamente, ofrecemos a nuestros lectores temas científicos de gran interés y actualidad, además de incluir artículos que hacen al quehacer de la enseñanza de las ciencias.

Hoy más que nunca nuestro país necesita que sus jóvenes estudien y, para que ello ocurra, no basta con declamar que la educación y la salud son prioridades. Se deben realizar acciones concretas, y ya mismo. Surgen entonces las preguntas: ¿Cómo empezar? ¿Cómo seguir?

Sabemos que existen proyectos y propuestas que se implementarán a largo plazo, producto de la discusión entre expertos. Entretanto, por mi parte, propongo y practico algo similar a la teoría del caos. Éste es un concepto que parece tener mala fama en la vida diaria, pero no la tiene si nos referimos a la teoría del caos que se maneja en física y matemáticas. Por lo tanto, a las preguntas planteadas antes, contesto: **Como se pueda**, sin orden, pero accionando con imaginación sobre todos los flancos que participan del sistema educativo.

La escuela secundaria, en la que se definen vocaciones, necesita que sus docentes se encuentren actualizados y que dispongan de instrumental para mostrar, en forma empírica, las leyes y propiedades de la materia y de la vida.

Las revistas científicas de divulgación de nuestro país y de Latinoamérica deberían tender al libre acceso de sus artículos vía Internet. Es una forma efectiva de llegar a los rincones más apartados, lejos de los grandes centros urbanos. Insisto en este punto: la divulgación que enseña las teorías probadas de los fenómenos principales debe ser de acceso libre. En una experiencia reciente, los alumnos de un curso de extensión, profesores de química del secundario han valorado primordialmente las lecturas de artículos obtenidos de publicaciones dedicadas a la divulgación. Lástima que algunas no aparecen en Internet y otras de gran prestigio sólo permiten bajar una nota por número que no siempre se adapta a la curricula del curso.

Las universidades deberían adaptar sus curriculas a las necesidades cambiantes de la realidad de este siglo e incrementar los cursos de posgrado con contenidos que permitan la profundización de temas importantes que no pueden abordarse durante el transcurso de las carreras tradicionales. Estimular también el dictado de cursos de extensión y capacitación con modalidad a distancia. Facilitar la formación del pos grado en centros de excelencia fuera o dentro de nuestro país.

En este número de QuímicaViva, bajo el acápite *Enseñanza de la Ciencia*, presentamos dos artículos que responden a las premisas anteriores: la experiencia adquirida en la formación del pos grado en el exterior, y un trabajo de divulgación fruto de la realización de un curso de pos grado. Esta nueva modalidad que ofrece nuestra publicación espero que sea imitada por otros profesores a los que ofrecemos nuestro espacio para incentivar la tarea de los alumnos. Al respecto nos comentaba el profesor Rubén Contreras: "*Evidentemente la posibilidad de publicar algo a partir de los trabajos prácticos ha sido un notable factor de estímulo*".

De este modo creemos colaborar en un tema de gran preocupación: la enseñanza de las ciencias exactas en nuestro país.

Dra Celia E. Coto.  
Directora de QuímicaViva.



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 7, diciembre 2008

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)

## ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL: ESTADO ACTUAL EN EL CASO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B Y C.

Concepción García Luján, Aurora Martínez Romero, Jesús Vásquez Arroyo y Aurelio Maldonado Cabrera

Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. Departamento de Postgrado e Investigación. Gómez Palacio, Dgo., México.

Email: [conygarcialujan@hotmail.com](mailto:conygarcialujan@hotmail.com).

Recibido: 30/11/08. Aceptado: 10/12/08

### Resumen

Las enfermedades de transmisión sexual (ETS) son un problema de salud pública en el mundo, especialmente en los países en vías de desarrollo, debido a la infertilidad, discapacidad a corto plazo con consecuencias médicas y psicológicas para miles de hombres, mujeres y niños. Las consecuencias de las ETS son dramáticas si se tiene en cuenta su contribución potencial a la transmisión del virus VIH. Para tomar un ejemplo de un país con buenas estadísticas: la incidencia de carcinoma hepatocelular (HCC) en los Estados Unidos se duplicó durante los últimos 20 años y continúa incrementándose rápidamente. Las principales causas de esta enfermedad son las infecciones virales crónicas causadas por los virus de hepatitis B y C. Hay aproximadamente 3,5 millones de americanos infectados de manera crónica con el virus de la hepatitis C (HCV). La mayoría de estos individuos no han sido diagnosticados. Mientras que para el virus de la hepatitis B (HBV) se estima que 1,25 millones de personas están infectados de manera crónica. Con una alta proporción entre los inmigrantes de Asia, África del sub-Sahara, y zonas de centro y Sudamérica.

**Palabras clave:** enfermedades de transmisión sexual (ETS), hepatitis B y C, carcinoma hepatocelular.

### Sexually transmitted diseases: rol of hepatitis viruses B and C

#### Abstract

Sexually transmitted diseases (STD) are a public health problem in the world, especially for developing countries, due to infertility, short-term disability with medical and psychological consequences for thousands of men, women and children. The consequences of STDs are dramatic if one takes into account their potential contribution to HIV transmission. To consider data from a country with available epidemiological statistics like US we can say that the incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) in the US. doubled during the past 20 years and continues to increase rapidly. The main causes of this disease are chronic viral infections with hepatitis B and C. There are approximately 3.5 million Americans infected in a chronic way by hepatitis C virus (HCV). Most of these individuals have not been diagnosed. For the hepatitis B virus (HBV) is estimated that 1.25 million people in the U.S. are chronically infected so. With a high proportion of immigrants from

Asia, sub-Saharan Africa and Central and South America.

**Keywords:** sexually transmitted diseases (STDs), hepatitis B and C, hepatocellular carcinoma.

### Introducción.

El término “enfermedad de transmisión sexual” es poco específico para cualquier enfermedad, pero denota a los más de 25 organismos infecciosos que son transmitidos a través de la actividad sexual y a las docenas de síndromes que estos provocan. Las enfermedades de transmisión sexual (ETS), son casi siempre transmitidas de persona a persona a través de las relaciones sexuales. Estas infecciones son transmitidas de manera más eficiente a través de relaciones anales o vaginales y generalmente de manera menos eficiente por relaciones orales. Algunas ETS como la infección por el virus de la hepatitis B y el VIH son también transmitidas por vía parenteral, particularmente entre usuarios de drogas intravenosas por medio del uso de equipo de inyección de drogas contaminado. Además, las mujeres embarazadas y que padecen alguna ETS, pueden transmitir la infección al infante en el útero, durante el nacimiento o a través de la leche materna(11).

Las enfermedades de transmisión sexual son un problema de salud pública en el mundo (2) y especialmente en los países en vías de desarrollo, debido a la infertilidad, discapacidad a corto plazo y las consecuencias médicas y psicológicas para miles de hombres, mujeres y niños. Las consecuencias de las ETS son dramáticas si se tiene en cuenta su contribución potencial a la transmisión del VIH. La OMS considera cuatro elementos cruciales en la vigilancia de las ETS: notificación de casos, medición de la prevalencia y monitoreo, evaluación de la etiología de los síndromes de las ETS y monitoreo de la resistencia a los antimicrobianos (1).

Se estima que la frecuencia de las infecciones de transmisión sexual en la población general oscila entre 0,1 y 0,5%. Para la población considerada como de alto riesgo (sexo servidoras), se calcula una frecuencia de entre 10 y 20%. A finales del 2002, la ONUSIDA reportó que alrededor de 50 millones de casos nuevos de enfermedades de transmisión sexual ocurren anualmente (2).

Dentro de los grupos más importantes considerados en las ETS se incluyen organismos como protozoarios, levaduras, bacterias y virus, como el virus del SIDA y los virus de la hepatitis B (HBV) y C (HCV).

### Epidemiología del virus de hepatitis C

México tiene una prevalencia del virus de la hepatitis C de aproximadamente 0,7% al 1,6% en la población general, Estas estimaciones son ligeramente más bajas que la prevalencia de 1,7% para América, y para la prevalencia global del 3%(Tabla 1) (31).

**Tabla 1.** Seroprevalencia del virus de la hepatitis C en México comparado con otros países (White, 2007).

PAÍS	PREVALENCIA
------	-------------

	%
EEUU	0,60
Brasil	1,52
México	0,7 a 1,6
América	1,7
Global	3

En México las tasas de prevalencia de seromarcadores de la hepatitis B y/o viral, varía considerablemente en el país, ya que se ha reportado en Monterrey un valor de 0,47, en la ciudad de México de 0,74, 0,77 y 0,61 y en Guadalajara una tasa de 0,20 mientras que en otros países de América, la tasa oscila desde 0,60 para EEUU a 1,52 para Brasil (13).

La prevalencia encontrada para ambas hepatitis es más alta en la frontera Norte de México, que la reportada en otros estudios del resto del país como de la ciudad de México, Guadalajara y Monterrey y muy similar a la reportada en Brasil por lo cual es necesario se intensifique la vigilancia epidemiológica de la hepatitis para detectar factores de riesgo y que se promuevan campañas de vacunación de la hepatitis B, para evitar que aumente el número de casos (Tabla 2)(13).

**Tabla 2.** Seroprevalencia del virus de la hepatitis C en algunas ciudades de México (6, 13).

ESTADO	PREVALENCIA
	%
Durango	1,47
Monterrey	0,47
Guadalajara	0,20
Ciudad de México	0,74, 0,77 y 0,61%*

\* resultados variables obtenidos de tres estudios diferentes (6).

### Hepatitis virales

La hepatitis es un padecimiento viral que es causado por varios genotipos entre los cuales se encuentran los tipos A,B,C,D y E siendo los de mayor prevalencia e importancia médica los serotipos B y C.

La incidencia de carcinoma hepatocelular (HCC) en los EE.UU se duplicó durante los últimos 20 años y continúa incrementándose rápidamente. Las principales causas de esta enfermedad son las infecciones virales crónicas con hepatitis B y C. Hay aproximadamente 3,5 millones de americanos infectados de manera crónica con el virus de la hepatitis C. La mayoría de estos individuos no han sido diagnosticados. Para el virus de la hepatitis B (HBV) se estima que 1,25 millones de personas están infectados de manera crónica. Con una alta proporción entre inmigrantes de Asia, África del sub-Sahara, y zonas de centro y Sudamérica. La prevalencia de tasas de HBV es probablemente más alta que la estimada, esto es debido al aumento del número de inmigrantes desde las áreas endémicas de hepatitis B, situación que ocurre especialmente en las ciudades metropolitanas (12).

Debido a que comparten rutas de infección, muchos pacientes infectados con VIH están coinfectados con HBV o con hepatitis C. La coinfección con estos virus, especialmente con el HCV es un fuerte marcador predictivo para el éxito del tratamiento antirretroviral. Aún más, la coinfección con HBV y HCV puede influenciar el tiempo y la elección del tratamiento antirretroviral. En estudios de pronóstico de HIV es entonces importante incluir el estado de HBV y HCV, ambos para predecir pronóstico en subgrupos de pacientes (20).

Recientemente se han hecho estudios que sugieren que la actividad de la enfermedad crónica del virus de la hepatitis B, puede ser diferente en pacientes con virus de la hepatitis de diferentes genotipos. En Asia, donde se presentan el 75% de los pacientes con hepatitis crónica de todo el mundo, los virus son principalmente del genotipo B y C. Recientemente, el HBV genotipo B ha sido subclasificado en dos subtipos llamados Bj (encontrado solamente en Japón) y Ba (subtipo encontrado principalmente en el resto de Asia). El HBV del subtipo Ba surge como resultado de la recombinación de las regiones de la cápside y de la precápside del genotipo C con el genotipo genuino B (33).

### **Seroconversión**

La seroconversión es la fase en la que los anticuerpos frente al agente infeccioso que la causa, son detectados por primera vez. En el caso de la hepatitis puede haber una seroconversión del genotipo B al C o viceversa.

Algunos estudios han mostrado que los pacientes con el genotipo B tienen una alta probabilidad de tener hepatitis B y la seroconversión al antígeno de los pacientes con el genotipo C. En un estudio previo, los pacientes con el genotipo B tienen la seroconversión HBeAg, alrededor de 9 años más pronto que aquellos con el genotipo C (33).

Convencionalmente, la presencia de la versión secretora de la proteína de la cápside del HBV el antígeno e (HBeAg) está asociado con una alta carga viral y sirve como marcador para la replicación viral. La seroconversión HBeAg (HBeAg negativa y anti-HBe) está asociada con la remisión de la enfermedad hepática y marca la transmisión de la hepatitis crónica B al estado de transportador HBeAg asintomático (9).

### **Diagnóstico y Tratamiento**

Para detectar la presencia del virus, se ha desarrollado recientemente una prueba relativamente simple y sensitiva que es el inmunoensayo enzimático por quimioluminiscencia (CLEIA), que se usa para la detección de los anticuerpos HBeAg y HBcAg (32).

Con los múltiples agentes virales disponibles existe una gran necesidad de médicos que tengan suficiente conocimiento para proveer un buen diagnóstico del genotipo viral y para definir la mejor elección para el tratamiento de sus pacientes. Aún cuando estas drogas son altamente efectivas, existen diferencias en su seguridad, costo, resistencia a drogas y riesgos de reavivar la enfermedad a raíz de la interrupción prematura de la terapia o por el pobre cumplimiento por parte de los pacientes (7).

En cuanto al tratamiento para la hepatitis, en los casos donde se encuentra asociada con leucemia (HTLV-1) o SIDA (HIV), los inhibidores retrovirales tienen una eficacia limitada, debido a la resistencia viral que se ha generado. Una buena alternativa de tratamiento para la infección retroviral, es el blanco de células infectadas por toxinas recombinantes o inmunotoxinas que se unen a los antígenos de superficie y matan a las células por la toxina moyetina, como se ha demostrado en células infectadas con VIH (14).

### **El virus de la hepatitis B**

La hepatitis viral se ha convertido en un problema de salud pública global. El virus de la hepatitis B (HBV) causa infecciones agudas y crónicas. El ancho espectro clínico de la infección corre desde la hepatitis subclínica hasta la hepatitis aguda sintomática, desde un estado transportador en una hepatitis B inactiva en los antígenos de superficie (HBsAg), hasta la cirrosis hepática y sus complicaciones durante la fase crónica (27).

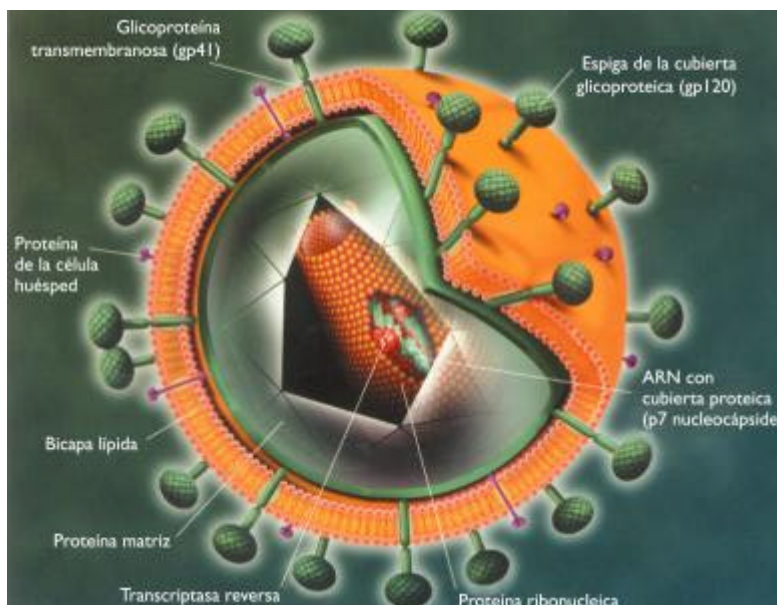
La infección por el virus de la hepatitis B es un problema de salud mundial, que afecta a más de 350 millones de personas en el mundo. Es una de las principales causas de enfermedad crónica del hígado, incluyendo hepatitis, cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular, especialmente en países en desarrollo (3).

Cerca del 90% de los infantes que adquieren la infección por HBV de sus madres al nacimiento, se convierten en infectados de forma crónica. Más de tres mil personas reportadas mueren de hepatitis B complicada con cirrosis en los EE.UU. Las personas con infección crónica de HBV tienen de 12 a 300 veces más alto riesgo de padecer carcinoma hepatocelular que las personas no portadoras (27).

La infección por el virus de la hepatitis B (HBV) resulta en un amplio espectro de manifestaciones clínicas, que van desde curso asintomático y hepatitis aguda auto-limitada o fulminante ó hepatitis crónica que puede progresar a cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular (HCC). La respuesta inmune individual del hospedero así como las mutaciones virales determinan ampliamente el curso natural de la infección por HBV (14).

### **Descripción del virus**

El virus de la hepatitis B (HBV) es un virus envuelto con un genoma pequeño (3.2-kb) con cadena parcialmente doble de DNA que causa infecciones crónicas y agudas (Figura No.1). La infección persistente con HBV es un importante problema de salud mundial con más de 350 millones de pacientes en riesgo de desarrollar cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular. El HBV no es directamente hepatotóxico, pero algunas proteínas del HBV han sido implicadas directamente en la patogénesis hepática (17, 30).



**Figura No. 1.** Estructura del virus de la hepatitis.

Los virus causantes de la hepatitis se han denominado con las letras A hasta la E: pertenecen a familias diferentes. Su vía de transmisión es distinta (oral: A y E; parenteral: B, D y C). El virus de la hepatitis D sólo puede replicarse asociado al B; es decir, en coinfección. Las hepatitis causadas por los virus A y E tienen buen pronóstico y no evolucionan a la cronicidad; los virus de la hepatitis B y C pueden persistir en replicación activa causando enfermedad crónica que puede abocar a cirrosis y/o hepatocarcinoma (24)

### **Vías de transmisión**

Las vías de transmisión son principalmente de dos formas, se transmite por exposición parenteral o vía mucosas con fluidos corporales positivos al HBsAg, generalmente de personas infectadas (27).

### **Portadores y respuesta inmune**

Existen cerca de 350 millones de portadores de HBV en el mundo. Estos portadores son un riesgo para el desarrollo de cirrosis, carcinoma hepatocelular (HCC) y muerte (7).

La lectina de unión manosa (MBL) es un reactante presente en la fase aguda de la enfermedad que es secretada desde el hígado y es crítica en las defensas del hospedero en contra de un espectro amplio de bacterias, hongos, virus y patógenos parásitos. La MBL media directamente la opsonofagocitosis y la activación de la ruta del complemento de la lectina del tipo C, con la unión de la manosa microbiana y por los residuos de superficie de la N-acetilglucosamina. La deficiencia de la MBL ha sido asociada con una serie de enfermedades infecciosas y autoinmunes incluyendo el VIH-1 y las infecciones virales por hepatitis B (4).



## **Diagnóstico**

En la década pasada, la detección y cuantificación en pacientes con infección por el HBV ha tenido una evolución drástica debido al surgimiento de las herramientas moleculares. Esto ha ayudado inmensamente al entendimiento de la patogénesis y al curso natural de la infección del HBV y simultáneamente, ha aumentado nuevos predicamentos y cuestiones clínicas relevantes (9).

La infección crónica por el virus de la hepatitis B (HBV) es un problema de salud global. Los marcadores serológicos son importantes en la infección crónica por el HBV para el diagnóstico, la prevención y el monitoreo de pacientes con tratamiento. Con el avance de la tecnología de la PCR, se emplean de manera común pruebas sensitivas para la detección del DNA viral, para monitorear la replicación viral. Algunas pruebas se han desarrollado para la medición de las concentraciones en suero de la hepatitis B, para el antígeno (HBeAg) o para el antígeno de la cápside (HBcAg). Sin embargo, estas pruebas son poco utilizadas debido a que son costosas, son de baja sensibilidad y de procedimientos complejos. Aquí se propone el uso de un inmunoensayo enzimático sensitivo de quimioluminiscencia para la detección de los antígenos de la cápside del HBV, se realiza específicamente con marcadores virológicos (32).

En algunos estudios, para fortalecer la inducción de la inmunidad protectora en contra de los virus de la hepatitis, se inmunizaron marmotas sanas con una vacuna de DNA bicistrónico (que codifica dos proteínas), una secuencia para la cápside del virus de la hepatitis, y otra secuencia de genes para la codificación de interferón. Otro grupo de animales se trató con DNA codificante únicamente para la cápside viral. Se encontró, que la vacuna bicistrónica que codifica para los antígenos de la cápside y para el interferón, fue más efectiva en la prevención de la hepatitis que el tratamiento que codificaba solamente la cápside viral, pero ninguno de los dos tratamientos pudo elevar la inmunidad totalmente estéril en contra del virus o de prevenir el establecimiento de la infección oculta.

## **Tratamiento**

Para las infecciones con retrovirus como la leucemia, la hepatitis o el SIDA, existen nuevas alternativas, debido a que los retrovirus codifican una transcriptasa reversa (RT), una estrategia terapéutica es el uso de la RT. Los inhibidores de la RT tales como la lamivudina, adefovir, entecavir y otros análogos se están empezando a usar para el tratamiento del HBV (14).

La carga viral en los pacientes infectados con el HBV puede ser disminuida a través del uso de agentes antivirales como la lamivudina, el adefovir, el dipivoxiltecavir y el telbivudine. Los cuales son aprobados por la FDA, el tratamiento para el HBV es una terapia de largo plazo y puede llevar al desarrollo de mutantes resistentes a las drogas que son responsables del fallo en el tratamiento (3).

Los tratamientos aprobados para la hepatitis B crónica, son unos pocos análogos de los nucleótidos, tales como la lamivudina y el adefovir, o el alfa interferon (IFN- alfa), recientemente, en la forma de pegilado (pegIFN-alfa). El pegIFN-alfa administrado por 48 semanas puede inducir la seroconversión de la hepatitis B y del antígeno HBeAg en 32% de los pacientes. Sin embargo, el

60% de los pacientes sigue sufriendo la hepatitis B crónica a pesar del tratamiento con la pegIFN-alfa (10).

La inmunoglobulina para la hepatitis B (HBIG) es usada clínicamente como inmunoprofilaxis pasiva para la exposición accidental al virus de la hepatitis B (HBV) y a largo plazo previene la recurrencia de HBV en el trabajo después de un trasplante de hígado. Contiene un alto título de anticuerpos en contra de los antígenos de la superficie del HBV (HBsAg) el cual es el componente principal de la envoltura externa del virión de la hepatitis de 42 nm de diámetro, así como de las subpartículas de 22 nm de diámetro (26).

### **Vacunas**

Actualmente, la vacuna contra la hepatitis B disponible es administrada de manera parenteral e induce solamente respuesta inmune sistémica. Los anticuerpos producidos como respuesta inmune son capaces de producir protección a nivel de mucosas, la cual constituye el principal sitio de acción para la mayoría de las infecciones incluyendo la del HBV. La administración oral de antígenos a través de bilosomas, que son vesículas estabilizadas de sales biliares, ha demostrado ser efectiva en la estimulación de la respuesta inmune sistémica y de mucosa, lo cual sugiere que los bilosomas son una promesa y un sistema de transporte potencial para la inmunización oral (27).

A pesar de la prevención con inmunoglobulinas de la hepatitis B, la infección se repite en el 30% de los pacientes que reciben trasplantes de HBsAg positivos a cirrosis. El fallo en la inmunoprofilaxis se debe ya sea a la alta carga de virus de la hepatitis B en los pacientes o a la neutralización inadecuada de las inmunoglobulinas o por el surgimiento de anticuerpos inducido por el escape de mutantes del HBV (26).

Recientemente Chen y colaboradores encontraron que un nivel alto de DNA de HBV en suero  $\geq 10\ 000$  copias/mL fue el factor de riesgo más importante para el desarrollo de carcinoma hepatocelular, independientemente del nivel de HBaG aminotransferasa alanina en el suero y de la cirrosis hepática (7).

### **Hepatitis C**

La infección por hepatitis C es un problema significativo para la medicina y la sociedad en todo el mundo. En los pasados 15 años hemos visto la caracterización del virus de la hepatitis C (HCV) como la principal causa de hepatitis no-B, no-A el desarrollo de pruebas de escaneo efectivas para los anticuerpos del HCV para la mejora en la seguridad de la provisión de sangre, definición de una epidemiología en la comunidad y en los hospitales de la infección por HCV, desarrollo de un claro entendimiento acerca de la prevalencia y de los factores que influyen la prevalencia de la infección por HCV en la sociedad, desarrollo de un cuerpo de información sustancial acerca de la historia natural de la infección por HCV, respuestas del huésped hacia la exposición y a la infección e inmunopatogénesis de síndromes asociados con la infección aguda y crónica, y un progreso sustancial en el desarrollo de intervenciones terapéuticas para modificar o curar la infección por HCV (15, 23).

Los costos relacionados con la infección con el HCV en los EEUU es de alrededor de 700 millones de dólares anuales, y se espera que el impacto de la infección por el HCV siga en aumento en los próximos 20 años. Las terapias actuales para el tratamiento del HCV emplean interferón alfa y rivavirina. Pero el tratamiento controla la infección solamente en la mitad de los pacientes infectados con el genotipo 1, el genotipo más común en los EEUU. Las razones del fallo no están comprendidas, pero las variables del virus, el hospedero y la respuesta inmune se correlacionan con la respuesta a la terapia (5); (19, 22).

La hepatitis C es una enfermedad crónico-degenerativa del hígado que es causada por el virus de la hepatitis C. Aunque el 15 o 20% de los individuos infectados con el HCV muestran el virus en la fase aguda, arriba del 85% desarrollan viremia persistente. Aproximadamente el 60% estos infectados manifiestan la hepatitis crónica, y en este grupo, la tasa de progresión de la enfermedad es generalmente lenta y variable. Aproximadamente el 20% de los pacientes con hepatitis C crónica, desarrollan cirrosis dentro de los 20 años de infección, y aquellos con cirrosis tienen el riesgo de una descompensación y de desarrollar un carcinoma hepatocelular (21, 23). Varios estudios en el Suroeste de Asia sugieren que los virus de la hepatitis que presentan el antígeno HBeAg, están asociados con hepatitis más activa, enfermedad del hígado más avanzada y una alta prevalencia de carcinoma hepatocelular. Sin embargo, la mayoría de estos estudios son del tipo cruzado-seccional o estudios de casos-control (8).

### **Genotipos y características generales del virus**

El genotipo más prevalente en Norteamérica, comprende aproximadamente el 60% de todos los casos de HCV, es el genotipo 1, seguido por los genotipos 2 y 3. La cirrosis hepática y el carcinoma hepatocelular son consecuencia de la hepatitis C crónica (18).

El HCV es un hepatovirus de la familia de los flavivirus, su genoma es de una sola cadena de RNA simple y positiva de 9600 nucleótidos, la cual contiene un marco simple de lectura abierta. Las proteínas estructurales incluyen las proteínas de la cápside, las cuales forman la cápside viral y dos glicoproteínas de superficie (5, 22).

Generalmente se acepta que el HCV se replica haciendo una cadena de cRNA conocida como negativa o cadena de replicación. Aunque el hígado es el principal sitio de la replicación viral, se ha creado un cuerpo de evidencias de que existe la propagación del virus en lugares extrahígado, incluyendo en las células del sistema linfático y nervioso central. En lo concerniente a la infección de las células linfoides, las cadenas del HCV positivas y negativas fueron detectadas en las células mononucleares y en la médula ósea de pacientes infectados de manera crónica (22).

Como con otros miembros de la familia *Flaviviridae*, el HCV se replica por reconversión enzimática convirtiendo su genoma de cadena positiva de RNA en una de RNA replicativo intermediario o cadena menor (RI RNA) y entonces se copia la cadena menor de RNA para producir nuevas progenies de cadena plus de RNA. Los genomas nacientes del HCV son empacados en los viriones que son liberados desde las células infectadas por mecanismos desconocidos (21).

### **Factores de riesgo y formas de transmisión**

Hablando de la hepatitis, podemos entender la epidemiología, las rutas de transmisión y prevalencia de la infección por HCV en la comunidad, también empezamos a entender que este virus de la sangre representa un riesgo substancial para los trabajadores del cuidado de la salud por la exposición ocupacional a la sangre y a otros fluidos corporales que contienen el virus en sus lugares de trabajo (15).

La hepatitis C es primeramente una infección surgida en la sangre o transmitida parenteralmente. Los vehículos y rutas de transmisión parenteral, incluyen sangre contaminada y productos sanguíneos, agujas compartidas, instrumentos contaminados (por ejemplo: en la hemodiálisis, el reuso de dispositivos médicos contaminados, instrumentos para tatuajes, agujas de acupuntura, rasuradoras e instrumentos para manicure), y exposición ocupacional y nosocomial (por ejemplo heridas con agujas retractiles) (15).

El HCV se ha convertido en la principal causa de infección viral surgida de la sangre en los EE.UU y en todo el mundo y es la principal causa de enfermedad crónica del hígado. Alter y colaboradores, de los centros de CDC afirman que la infección por hepatitis viral C es la infección de la sangre más común y crónica en ese país (15).

La transmisión del HCV por la vía de las transfusiones sanguíneas tuvo su tasa más alta a principios de los años 1990. Sin embargo la prevalencia de la infección por el virus de la hepatitis C ha bajado significativamente en la pasada década debido principalmente al monitoreo serológico de los donadores de sangre y a la baja en la necesidad de sangre después de la introducción de la eritropoyetina para el tratamiento de la anemia en la población. Sin embargo, la infección aguda epidémica producida por el HCV permanece presente en los Centros de Hemodiálisis, lo cual exige la recomendación del aislamiento de los pacientes con HCV+ en unidades separadas (29).

### **Evidencias de transmisión sexual**

Los investigadores han detectado la presencia de ácido nucleico del HCV en semen, sangre menstrual y otros fluidos corporales. Una de las piezas que apoya indirectamente la transmisión sexual viene de estudios de contactos familiares con individuos infectados con el HCV. En la aplastante mayoría de tales estudios, solamente patrones sexuales de individuos infectados parecen tener un substancial incremento en el riesgo para la infección, y en algunos de los estudios, este riesgo se incrementa con la extensión en los tiempos de exposición. De manera inversa, se ha notado que el factor de riesgo más común para la infección que se puede producir en ambos patrones sexuales (homosexual y heterosexual), no fue excluido en la mayoría de estos estudios. Evidencias posteriores para la transmisión sexual provienen de la secuenciación genética y de los genotipos de las cepas de los patrones sexuales (15).

Para estas pruebas de secuenciación, la PCR es una poderosa herramienta porque es de manejo simple, extremadamente específica, y extremadamente eficiente. La cantidad de muestra se duplica en cada etapa de amplificación, produciéndose un incremento exponencial. Esto significa que sólo se necesita que estén presentes en la muestra unas cuantas moléculas de DNA diana para comenzar la reacción. La reacción es tan específica que con iniciadores de 15 nucleótidos, y altas

temperaturas de integración de los pares de bases, los niveles de falsos apareamientos son extremadamente bajos y en consecuencia el producto formado debe ser relativamente homogéneo (Henderson 2003).

La hepatitis C crónica se presenta en el 30% de los pacientes con SIDA, y hay evidencia a la fecha que sugiere que la enfermedad del hígado es más severa en pacientes con la coinfección SIDA/HCV que en sujetos con mono infección del tipo HCV (21).

### **Manifestaciones extra hepáticas y progresión de la hepatitis C.**

Se han descrito muchas manifestaciones extrahepáticas en la infección con HCV, tales como la crioglobulinemia mixta, la glomerulonefritis, la porfiria cutánea tardía y el Síndrome de Sjögren. El virus de la hepatitis C tiene tropismo por otros tejidos más allá del hígado (por ejemplo tejidos linfáticos) Se ha aislado de miocardio de pacientes con miocarditis y cardiomiopatía, de ahí su inclusión en los virus cardiotrópicos, sin embargo, los mecanismos por los cuales este virus daña al miocardio no están dilucidados (25).

El intervalo medio desde el tiempo de infección al establecimiento de la cirrosis es de aproximadamente 30 años, pero puede ocurrir dentro de un periodo de 10 a 50 años. En la mayoría de los pacientes, el progreso de la enfermedad involucra fibrosis, cuya extensión en el tejido hepático determina el inicio de los eventos clínicos más severos en los pacientes con HCV (18).

### **Otros tipos de hepatitis**

El virus de la hepatitis D es un virus con RNA defectuoso que requiere de una función auxiliar que es provista por el virus de la hepatitis B (HBV) para el ensamble y la propagación de los virus. El curso clínico de la hepatitis crónica D (CDH) es generalmente más severo que en las otras formas de hepatitis viral. La CDH es una enfermedad del hígado seria y progresiva que lleva a la cirrosis en el 70% de los pacientes (16).

El tratamiento más efectivo para la CDH es el interferón alfa: La normalización de los niveles de aminotransferasa, pérdida del RNA en el HDV, y la mejora en la histología del hígado se observan en algunos pacientes que han sido tratados con interferón alfa. Sin embargo, después de discontinuar la terapia la mayoría de los pacientes recaen (16).

### **Hepatitis A y E**

El virus de la hepatitis A (HAV) es un patógeno importante el cual es responsable de una forma común de hepatitis viral en muchas partes del mundo donde la higiene es pobre. El virus HEV comparte algunas características con HAV y estos virus desnudos de RNA son transmitidos por la vía fecal-oral. La infección por HEV es un importante problema de salud pública en Asia, Africa y en México se ha reportado una epidemia (28).

### **Conclusiones**

Las enfermedades de transmisión sexual son una amenaza oculta que representa un grave problema de salud pública a nivel mundial. El caso de la infección por el virus de la hepatitis,

principalmente los tipos B y C, se considera en este grupo de enfermedades debido a que su principal causa de transmisión es por vía sexual. La infección por el virus de la hepatitis B (HBV) es un problema de salud mundial, que afecta a más de 350 millones de personas. Es una de las principales causas de enfermedad crónica del hígado, incluyendo hepatitis crónica, cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular, especialmente en países en desarrollo. El virus de la hepatitis C (HCV) se ha convertido en la principal causa de infección viral surgida de la sangre en los EE.UU y en todo el mundo y es la principal causa de enfermedad crónica del hígado. La hepatitis C es primeramente una infección surgida en la sangre o transmitida parenteralmente. Los vehículos y rutas de transmisión parenteral, incluyen sangre contaminada y productos sanguíneos, agujas compartidas, instrumentos contaminados (por ejemplo, en la hemodiálisis, el reuso de dispositivos médicos contaminados, instrumentos para tatuajes, agujas de acupuntura, rasuradoras e instrumentos para manicure), y exposición ocupacional y nosocomial (por ejemplo heridas con agujas retractiles).

### Referencias

1. **Alvis, N., S. Mattar, J. Garcia, E. Conde, and A. Diaz.** 2007. [Sexually-transmitted infection in a high-risk group from Monteria, Colombia]. *Rev Salud Publica (Bogota)* **9**:86-96.
2. **Baltazar Reyes, M. C., L. Rivera Rivera, A. Cruz Valdez, and C. A. Hernandez Giron.** 2005. [Prevalence of sexually transmitted infections and associated risk factors among female commercial sex workers in Cuautla, Morelos]. *Ginecol Obstet Mex* **73**:36-47.
3. **Bielawski, K. P., W. A. Al-Soud, P. Stalke, U. Charmuszko, and T. Wadstrom.** 2008. Determination of lamivudine-resistant variants of hepatitis B virus by denaturing gradient gel electrophoresis: A novel approach to monitoring drug resistance. *Med Sci Monit* **14**:CR281-285.
4. **Brown, E. E., et al.** MBL-2 and hepatitis C virus infection among injection drug users. National Institutes of health. Department of health and human services.
5. **Cannon, N. A., M. J. Donlin, X. Fan, R. Aurora, and J. E. Tavis.** 2008. Hepatitis C virus diversity and evolution in the full open-reading frame during antiviral therapy. *PLoS ONE* **3**:e2123.
6. **Carretero-V., M. A., Teodoro Carrada Bravo y Angel Martínez Magdaleno.** . 2003. Seroprevalencia de VHC, VHB y VIH en donadores de sangre de Irapuato, México. *Salud Pública de México* **45**.
7. **Chae, H. B., and H. W. Hann.** 2007. Time for an active antiviral therapy for hepatitis B: An update on the management of hepatitis B virus infection. *Ther Clin Risk Manag* **3**:605-12.
8. **Chan, H. L., M. L. Wong, A. Y. Hui, L. C. Hung, F. K. Chan, and J. J. Sung.** 2003. Hepatitis B virus genotype C takes a more aggressive disease course than hepatitis B virus genotype B in hepatitis B e antigen-positive patients. *J Clin Microbiol* **41**:1277-9.
9. **Changotra, H., A. Dwivedi, A. K. Nayyar, and P. K. Sehajpal.** 2008. Diagnosing different stages of hepatitis B infection using a competitive polymerase chain reaction assay. *Indian J Med Microbiol* **26**:138-42.
10. **Christen, V., F. Duong, C. Bernsmeier, D. Sun, M. Nassal, and M. H. Heim.** 2007. Inhibition of alpha interferon signaling by hepatitis B virus. *J Virol* **81**:159-65.

11. **Eng, T. R. y. W. T. B.** 1997. the hidden epidemic. Confronting sexually transmitted diseases. National Academy Press, Washington, D.C.
12. **Ferrante, J. M., D. G. Winston, P. H. Chen, and A. N. de la Torre.** 2008. Family physicians' knowledge and screening of chronic hepatitis and liver cancer. *Fam Med* **40**:345-51.
13. **Flores, P. L. e. a.** 2002. Prevalencia de seromarcadores de hepatitis B y C en donadores del IMSS Cd. Juárez, Chihuahua., Congreso Anual AMIMC. AMIMC.
14. **Hafkemeyer, P., U. Brinkmann, E. Brinkmann, I. Pastan, H. E. Blum, and T. F. Baumert.** 2008. Pseudomonas exotoxin antisense RNA selectively kills hepatitis B virus infected cells. *World J Gastroenterol* **14**:2810-7.
15. **Henderson, D. K.** 2003. Managing occupational risks for hepatitis C transmission in the health care setting. *Clin Microbiol Rev* **16**:546-68.
16. **Kaymakoglu, S., C. Karaca, K. Demir, S. Poturoglu, A. Danalioglu, S. Badur, M. Bozaci, F. Besisik, Y. Cakaloglu, and A. Okten.** 2005. Alpha interferon and ribavirin combination therapy of chronic hepatitis D. *Antimicrob Agents Chemother* **49**:1135-8.
17. **Mancini-Bourgine, M., F. Bayard, P. Soussan, Q. Deng, Y. C. Lone, D. Kremsdorf, and M. L. Michel.** 2007. Hepatitis B virus splice-generated protein induces T-cell responses in HLA-transgenic mice and hepatitis B virus-infected patients. *J Virol* **81**:4963-72.
18. **Mendes, L. S., M. E. Nita, S. K. Ono-Nita, E. S. Mello, L. C. da Silva, V. A. Alves, and F. J. Carrilho.** 2008. Prognostic factors for progression of liver structural lesions in chronic hepatitis C patients. *World J Gastroenterol* **14**:2522-8.
19. **Nachnani, J. S., R. Gidwani, E. Sadeddin, W. K. Clarkston, R. Fiorella, and L. M. Alba.** 2007. Clinicopathological predictors to predict sustained viral response rates in patients with chronic hepatitis C infection. *Indian J Gastroenterol* **26**:279-82.
20. **Obel, N., H. Reinholdt, L. H. Omland, F. Engsig, H. T. Sorensen, and A. B. Hansen.** 2008. Retriability in The Danish National Hospital Registry of HIV and hepatitis B and C coinfection diagnoses of patients managed in HIV centers 1995-2004. *BMC Med Res Methodol* **8**:25.
21. **Pal, S., M. C. Shuhart, L. Thomassen, S. S. Emerson, T. Su, N. Feuerborn, J. Kae, and D. R. Gretch.** 2006. Intrahepatic hepatitis C virus replication correlates with chronic hepatitis C disease severity in vivo. *J Virol* **80**:2280-90.
22. **Pham, T. N., S. A. MacParland, P. M. Mulrooney, H. Cooksley, N. V. Naoumov, and T. I. Michalak.** 2004. Hepatitis C virus persistence after spontaneous or treatment-induced resolution of hepatitis C. *J Virol* **78**:5867-74.
23. **Pham, T. N., and T. I. Michalak.** 2008. Occult persistence and lymphotropism of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* **14**:2789-2793.
24. **Prats, G.** 2006. *Microbiología Clínica*. Editorial Médica Panamericana, S.A., Madrid, España.
25. **Sanchez, M. J., and N. V. Bergasa.** 2008. Hepatitis C associated cardiomyopathy: Potential pathogenic mechanisms and clinical implications. *Med Sci Monit* **14**:RA55-63.
26. **Schilling, R., S. Ijaz, M. Davidoff, J. Y. Lee, S. Locarnini, R. Williams, and N. V. Naoumov.** 2003. Endocytosis of hepatitis B immune globulin into hepatocytes inhibits the secretion of hepatitis B virus surface antigen and virions. *J Virol* **77**:8882-92.

27. **Shukla, A., K. Khatri, P. N. Gupta, A. K. Goyal, A. Mehta, and S. P. Vyas.** 2008. Oral immunization against hepatitis B using bile salt stabilized vesicles (bilosomes). *J Pharm Pharm Sci* **11**:59-66.
28. **Takahashi, M., T. Nishizawa, Y. Gotanda, F. Tsuda, F. Komatsu, T. Kawabata, K. Hasegawa, M. Altankhuu, U. Chimedregzen, L. Narantuya, H. Hoshino, K. Hino, Y. Kagawa, and H. Okamoto.** 2004. High prevalence of antibodies to hepatitis A and E viruses and viremia of hepatitis B, C, and D viruses among apparently healthy populations in Mongolia. *Clin Diagn Lab Immunol* **11**:392-8.
29. **Taziki, O., and F. Espahbodi.** 2008. Prevalence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl* **19**:475-8.
30. **Valsamakis, A.** 2007. Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis B. *Clin Microbiol Rev* **20**:426-39, table of contents.
31. **White, E. F., R. S. Garfein, K. C. Brouwer, R. Lozada, R. Ramos, M. Firestone-Cruz, S. G. Perez, C. Magis-Rodriguez, C. J. Conde-Glez, and S. A. Strathdee.** 2007. Prevalence of hepatitis C virus and HIV infection among injection drug users in two Mexican cities bordering the U.S. *Salud Publica Mex* **49**:165-72.
32. **Wong, D. K., Y. Tanaka, C. L. Lai, M. Mizokami, J. Fung, and M. F. Yuen.** 2007. Hepatitis B virus core-related antigens as markers for monitoring chronic hepatitis B infection. *J Clin Microbiol* **45**:3942-7.
33. **Yuen, M. F., S. K. Fung, Y. Tanaka, T. Kato, M. Mizokami, J. C. Yuen, D. K. Wong, H. J. Yuan, S. M. Sum, A. O. Chan, B. C. Wong, and C. L. Lai.** 2004. Longitudinal study of hepatitis activity and viral replication before and after HBeAg seroconversion in chronic hepatitis B patients infected with genotypes B and C. *J Clin Microbiol* **42**:5036-40.



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 7, diciembre 2008

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)



## Estado actual de los tests genéticos en países en desarrollo: el caso de América Latina y en especial de Argentina.

Susana E. Sommer

Profesora de "Bioética en la ciencia" en la Maestría de Biología Molecular Médica y en el Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

e-mail: [susommer@fibertel.com.ar](mailto:susommer@fibertel.com.ar)

Recibido: 20/10/08. Aceptado: 15/11/08

### Resumen

Las repercusiones y consecuencias éticas del progreso científico y tecnológico son especialmente perceptibles hoy en día en los ámbitos de la genética y de la biotecnología. La situación de la genética clínica en nuestro país, su desarrollo, además de algunas de las cuestiones a resolver como el cuidado de la salud reproductiva de las mujeres, la detección temprana de anomalías genéticas, se presentan en este trabajo. La inequidad, discriminación, privacidad, y la regulación de los tests son discutidas dentro de los aspectos éticos, así como la controversia entre libertad de investigación y límites.

**Palabras clave:** *ética - tests genéticos - aspectos legales y sociales*

### Abstract

The repercussion and ethical consequences of scientific and technological advances are specially perceived in fields such as genetics and biotechnology. Human genetics in our country, its development as well as some issues as care of women's reproductive health, early detection of genetic diseases are discussed. Inequity, discrimination, privacy are some of the involved ethical issues besides the controversy between academic freedom and limits.

**Key words:** *ethics – genetic tests – legal and social issues.*

### Introducción

Los cambios hereditarios - las modificaciones en los genes, las alteraciones en la estructura cromosómica - son la causa de las enfermedades genéticas. Estas alteraciones pueden ser neutras, ventajosas o deletéreas.

Ahora bien, considerar que la enfermedad genética es producto del defecto de un solo gen equivale a una simplificación. Aunque la anemia falciforme o la enfermedad de Tay-Sachs responden a este modelo, éste no ocurre en otros casos. En la mayoría de las ocasiones, las condiciones más complejas involucran a un grupo de genes que dan cuenta de la predisposición de una persona a una

enfermedad. De cualquier manera, hay que tener claro que la severidad con que se expresa una enfermedad es diferente en personas distintas.

Muchas enfermedades genéticas ocurren cuando están presentes dos copias del gen mutado, son las enfermedades debidas a genes recesivos, generalmente una sola copia de este gen no produce síntomas. Otras enfermedades son causadas por genes dominantes, como el enanismo acondroplásico o la enfermedad de Huntington, es decir que la presencia de una sola copia del gen alcanza para que éste se exprese. Cuando los genes determinantes de una enfermedad están ubicados en el cromosoma sexual X hablamos de enfermedades ligadas al sexo, como ocurre con el daltonismo o la hemofilia.

La probabilidad de que ocurra una enfermedad genética varía según las circunstancias; en unos casos la presencia de ciertos genes produce un efecto leve, mientras que otras veces el daño es letal. Incluso en casos de una misma característica genética, hay casos más o menos típicos de cada enfermedad. También varía la edad en que cada enfermedad se presenta, a veces ocurre en el estado embrionario, otras a edad avanzada y las características son disímiles según en el momento en que aparece. Se consideran más graves las que producen muerte temprana, y es evidente que las implicaciones de la predicción de una enfermedad son distintas según la edad de las personas: es diferente un diagnóstico de leucemia en una persona de 25 años y un diagnóstico a los 90 años.

Actualmente se considera que el cáncer es genético cuando existe una predisposición familiar que, en ciertas condiciones, favorece cambios en el ADN por lo que una célula normal se transforma en invasiva y tiene un crecimiento maligno. También hay acuerdo que ciertos factores ambientales funcionan como carcinógenos. Los carcinógenos ambientales pueden ser sustancias químicas, radiaciones y probablemente virus. Por esta razón, además de los distintos programas que existen, es de interés encarar políticas que contribuyan a disminuir la exposición a estos carcinógenos.

Los tests genéticos son los instrumentos que permiten determinar la posibilidad de riesgo a ciertas enfermedades hereditarias, y por esta misma razón cumplen un rol muy especial en la prevención. En el caso de la detección de portadores, permite indicar cómo evitar ciertos factores de riesgo, y en el caso del asesoramiento reproductivo, sondea el riesgo de tener descendencia afectada. Como bien dice Penchaszadeh (2000)<sup>1</sup> el público desconoce los riesgos genéticos y las posibilidades de prevención, y prácticamente los únicos programas conocidos son los de diagnóstico precoz de hipotiroidismo y fenilcetonuria<sup>1</sup>.

---

<sup>i</sup> Algunas enfermedades genéticas como el **hipotiroidismo** o la **fenilcetonuria** se pueden diagnosticar precozmente y prevenir su aparición. El hipotiroidismo (poca producción de tiroxina) afecta el desarrollo, en particular de las células del cerebro y cuando no es tratado conduce a la deficiencia mental y al enanismo. La fenilcetonuria, una enfermedad en que falta la enzima que transforma a la fenilalanina en tirosina, produce acumulación de fenilalanina que produce daños en el sistema nervioso y por ende retardo mental. Estas enfermedades son diagnosticadas con sencillez (sólo es necesario analizar una gota de sangre de los recién nacidos) y se conocen las medidas de prevención necesarias. Por esa razón los niños con este problema no deben consumir alimentos que contienen fenilalanina y es por eso que se encuentran muchos alimentos con la advertencia: fenilcetonúricos abstenerse. Estos cuidados son necesarios hasta concluir el crecimiento. Actualmente se ha descubierto que las mujeres con fenilcetonuria deben continuar su dieta hasta salir de la edad reproductiva ya que la acumulación de fenilalanina puede resultar dañina para el feto si están embarazadas.

## El panorama en América latina<sup>2</sup>

Las tareas que realiza el ECLAMC<sup>ii</sup> (Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas) están relacionadas con la epidemiología de los trastornos y malformaciones genéticas, con el objetivo de obtener los datos necesarios para identificar las causas, para realizar programas de prevención e implementar el cuidado de los niños afectados y sus familias. Los recursos económicos del ECLAMC provienen esencialmente de agencias como los Consejos de Investigación de Argentina y Brasil y no de los ministerios de salud pública.

Sus tareas principales son:

1. Vigilancia epidemiológica trimestral de la frecuencia de defectos congénitos, y evaluación de la ocurrencia inusual de un defecto congénito específico en un lugar y tiempo determinado, a través de una metodología sistematizada denominada Rumor.
2. Estudio de factores genéticos y ambientales involucrados en la causalidad de defectos congénitos, mediante el desarrollo de trabajos de investigación en el marco de la epidemiología genética.
3. Difusión de normas de prevención primaria de defectos congénitos, en libros y publicaciones de divulgación general.

El ECLAMC (en 1989 fue designado por la Organización Mundial de la Salud centro colaborador para la prevención de las malformaciones congénitas) incluye el estudio permanente de frecuencias de las malformaciones y de sus variaciones en el tiempo y en el espacio; el estudio de causalidad por el análisis de 50 factores de riesgo con un enfoque caso-control y la manutención de un banco de datos, y de características reproductivas en poblaciones urbanas latinoamericanas.

Desde su creación en 1967, el ECLAMC ha estudiado en forma sistemática más de tres millones de nacimientos ocurridos en 150 series consecutivas, correspondientes a 150 hospitales participantes, distribuidos en 40 ciudades, de 12 países latinoamericanos. Esto constituye un archivo de datos especializado y de alta complejidad. El material continúa creciendo a un ritmo de 200.000 nacimientos por año. Sobre esta red continental de maternidades, se superpone otra red de 15 centros de genética médica que sirven de apoyo a la red hospitalaria. Ambas redes se integran en un sistema de colaboración internacional especializado y de bajo costo operativo que, además de producir información e efectuar acciones asistenciales y preventivas, capacitan recursos humanos y generan normas diagnósticas, terapéuticas y preventivas de los defectos congénitos. Estas normas son difundidas mediante los documentos finales de las reuniones anuales que realizan sin interrupción, desde 1969.

Primero en su tipo en América latina y uno de los pioneros en el mundo, el programa ECLAMC fue modelo en la creación de programas semejantes en México, España e Italia, así como también de sistemas nacionales de registro y vigilancia epidemiológica de malformaciones en Cuba y Costa Rica. Estos continúan funcionando bajo el asesoramiento del ECLAMC. De este modo, el programa ECLAMC ha creado una metodología y tecnología adecuadas para la investigación, registro y vigilancia de los defectos congénitos en países subdesarrollados.

---

<sup>ii</sup> El Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas, ECLAMC, tiene su sede en la Dirección de Investigación del Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas (CEMIC), en el Laboratorio de Epidemiología Genética del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), en el Departamento de Genética de la Universidad Federal de Río de Janeiro (UFRJ), Brasil y en el Departamento de Genética de la Fundación Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Brasil.

Algunas de las tareas que encara es la determinación de la prevalencia de ciertas enfermedades, también ha establecido programas de prevención a la exposición de teratógenos durante el embarazo, promueve y estimula la ingestión de ácido fólico en la dieta, realiza el tamizaje de malformaciones fetales, y del síndrome de Down con técnicas bioquímicas, y en los casos de resultados positivos sugiere el diagnóstico prenatal.

Un trabajo realizado por Penchazsadeh<sup>3</sup> muestra que la prevalencia de defectos congénitos y enfermedades genéticas en América Latina es semejante al de otras regiones del mundo. Este dato ha sido confirmado por diversos estudios realizados durante las últimas dos décadas.

En el año 2003<sup>iii</sup>, el programa de de genética Humana de la Organización Mundial de la Salud<sup>4</sup> organizó una consulta en América Latina para evaluar el estado de los servicios genéticos en la región y para desarrollar mecanismos de cooperación relacionados con temas de investigación genética, entrenamiento y educación. Los objetivos principales de la consulta son:

- establecer cuál es el estado del desarrollo de los servicios de genética médica en algunos países de América Latina;
- actualizar las líneas principales de investigación en la región;
- evaluar las implicaciones éticas, sociales y legales de la genética médica en la región;
- formar una red regional de cooperación para contribuir a mejorar la salud en la región a través de la investigación y servicios genéticos;
- delinear una agenda posible para implementar estas propuestas.

Veinte especialistas en genética médica de Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, México, Paraguay, Perú y Estados Unidos de América se reunieron durante el Congreso de la Sociedad Brasileña de Genética Clínica realizado en Porto Alegre, Brasil, en 2003 para analizar la situación de la genética médica en sus respectivos países. También se tomaron en cuenta las contribuciones enviadas por los expertos de Argentina y Cuba, que no asistieron. Las propuestas incluían realizar un directorio de la región, establecer redes de colaboración para evitar la duplicación de servicios, reducir costos, efectuar controles de calidad, además de entrenamiento y formación en genética tanto para profesionales de la salud como público en general. De allí surgieron las siguientes recomendaciones:

- Desarrollo de bases de datos accesibles de todos los proyectos de genética médica que existen en los institutos de investigación, universidades y otras instituciones académicas de la región.
- Desarrollo de un sistema de diseminación de resultados de la investigación al público en general y a los que hacen las políticas.
- Mejorar la eficiencia y evitar superposiciones a través de la promoción de investigaciones en colaboración entre las instituciones académicas de la región, dando prioridad a los proyectos que encaran enfermedades de impacto y significación para la salud pública.
- Identificar y diseminar posibles fuentes nacionales e internacionales de financiación para proyectos de genética médica en la región.

---

<sup>iii</sup> de acuerdo a las recomendaciones surgidas en la Reunión de Colaboración en Genética Médica que se realizó en Toronto, Canadá los días 9 y 10 de abril de 2002,

En algunos países, como Chile, los programas de búsqueda masiva de enfermedades se encuentran enfrentados a la necesidad de una evaluación que permita conocer su efectividad en la prevención de los efectos deletéreos de enfermedades asintomáticas al nacer, y que producen severas consecuencias si no son detectadas oportunamente como son la fenilcetonuria y el hipotiroidismo. Posteriormente, evaluar la incorporación de tests de detección de otras enfermedades genéticas basadas en un adecuado estudio de la relación costo - beneficio. Asociado a estos programas es necesario crear sistemas de información y educación para los profesionales, para el personal del sistema de salud y para la población en general, incluyendo un análisis real sobre la posibilidad de tratamiento, con su efectividad y accesibilidad, así como de los protocolos de seguimiento.<sup>5</sup>

### **La situación en la Argentina**

A partir de 1957, debido a una serie de factores a nivel nacional e internacional, se comienza a impulsar el desarrollo de la genética humana en la Argentina. A este desarrollo contribuyeron los concursos públicos para profesores en el área, la creación de nuevos institutos científicos, y el nombramiento de especialistas. Como consecuencia de ellos, y como tantas otras veces en el transcurso del devenir científico de nuestro país, regresaron al país profesionales que estaban en el exterior por distintas razones, y con su regreso contribuyen a la enseñanza e investigación en genética y genética humana, y la creación de numerosas instituciones públicas y privadas.<sup>6</sup>

Estos institutos proponen distintos estudios: diagnósticos y asesoramiento genético, orientan a parejas con riesgo de recurrencia de enfermedades genéticas, brindan diagnóstico prenatal para detectar anomalías cromosómicas, desordenes metabólicos y un número creciente de mutaciones en el feto, además de ofrecer estudios ecográficos durante el desarrollo fetal.

A los efectos de relevar el tipo, calidad y ubicación de las instituciones de salud dedicadas al diagnóstico, tratamiento y prevención de los defectos congénitos de los servicios de genética médica existentes en nuestro país, el Centro de Investigaciones Epidemiológicas organizó, en el año 2004, el Censo de Recursos en Genética Médica en Argentina<sup>7</sup>.

Este censo descubrió que la relación es de 1,32 servicios de genética por millón de habitantes, y de 1,77 médicos con formación en genética clínica -que es lo usual para América latina- mientras que en Europa el valor alcanza a 2,7 por millón de habitantes. También reveló que los servicios de genética atienden a un conjunto heterogéneo de demandas: niños con defectos congénitos, parejas con trastornos reproductivos, adultos con enfermedades de causa genética, individuos o familias en riesgo. En nuestro país no se conoce con exactitud cuál es el impacto, y los únicos datos oficiales disponibles indican que del total de 11703 defunciones de menores de un año ocurridas en el año 2002, 2479 se deben a defectos congénitos, que ocupan el segundo lugar entre las causas de muerte en esta categoría etaria.

### Cuestiones a resolver

El documento de la Organización Mundial de la Salud<sup>8</sup> menciona las siguientes cuestiones a resolver:

- Detección temprana de la enfermedad en el feto que, en algunos casos, permite un tratamiento oportuno de la misma: por ejemplo, el diagnóstico de la fenilcetonuria, hipotiroidismo congénito, y fibrosis quística.
- Descubrimiento de malformaciones genéticas mediante el uso de *tests prenatales* para la identificación temprana de enfermedades como espina bífida, que posibilitan la operación del feto en el vientre de la madre y revertir la situación de enfermedad.
- Control del medio y de la alimentación, que actúan como factores determinantes para el desarrollo cognitivo y genético del individuo. Los estudios demuestran que las mujeres que consumen la cantidad recomendada de ácido fólico desde antes de la concepción y durante el primer mes del embarazo, pueden reducir el riesgo de tener un bebé con defectos de nacimiento en el cerebro y la columna vertebral.

En cuanto a los servicios de salud pre y post natal, el documento sostiene la necesidad de crear clínicas de salud reproductiva para el cuidado de la mujer embarazada. Actualmente, además del cuidado de la salud, muchas mujeres desean saber si su bebé será normal, y entonces recurren al diagnóstico prenatal.

Entre los conflictos inherentes a este tipo de práctica, podemos mencionar la baja frecuencia de los defectos congénitos y el significativo monto de dinero necesario para el diagnóstico de una anomalía específica. Otra de las dificultades está asociada al hecho que todos los tests de "screening"<sup>iv</sup> presentan un cierto número de falsos negativos y falsos positivos; por lo que en cada caso se debe considerar cuáles son las estrategias a utilizar para determinar si una mujer corre un riesgo alto de tener un bebé con una anomalía específica al nacimiento.<sup>9</sup>

Desde el punto de vista ético, la detección prenatal de enfermedades que no tienen cura introduce una disyuntiva compleja, dada la imposibilidad legal de interrupción del embarazo en casi toda América latina con excepción de Cuba<sup>10</sup>.

Otro conflicto es la posibilidad de un acceso generalizado, tanto a los tests genéticos como a la información genética, que deben ser realizados en un contexto de cuidado de salud y precedidos por asesoramiento genético. Tanto el asesoramiento como los servicios de genética y el diagnóstico prenatal, corresponderían estar incluidos en el sistema público y/o convendría incluir adecuados reembolsos económicos.

Actualmente se añade una nueva inquietud: el manejo de los diagnósticos postnatales de enfermedades genéticas. Un ejemplo es lo que sucedió con Sophie<sup>11</sup>. Seis horas después de nacer, un estudio reveló que es sorda, y que los seguros médicos consideran que esta sordera congénita es una "condición pre existente", lo cual significa que no cubren los gastos de los tratamientos necesarios.

Es importante advertir que para que los avances en genética tengan utilidad en los países en desarrollo, es necesario un sistema de cuidado de salud que contemple dicha clase de estudios. No

---

<sup>iv</sup> Tamizaje o cribado.

se puede olvidar el "gap 10/90" (sólo el 10% del gasto global en investigación en salud se dedica a problemas del 90% de la población) que muestra la disparidad existente entre los países desarrollados y en vías de desarrollo en la inversión dedicada a la investigación en salud. Los informes del Global Forum for Health Research<sup>12</sup> divulgan el progreso obtenido en las actividades de investigación y las iniciativas dirigidas a generar fondos para resolver las dificultades de los países de ingresos medios y bajos.

Los problemas de acceso y equidad en genómica no deberían ser encarados independientemente de los problemas económicos, políticos y sociales. En algunos casos, la incorporación de estudios genéticos exacerba la inequidad existente entre países desarrollados y en desarrollo (donde las disparidades sociales y económicas son cada vez mayores). Los pobres y marginados tienen un peso desproporcionadamente más alto en enfermedad, mala salud y mortalidad. Ciertas enfermedades genéticas, además de las enfermedades transmisibles, los desordenes asociados a la morbilidad y mortalidad maternas y perinatales, además de los problemas nutricionales, se tornan un problema significativo para la salud en los países en desarrollo.

También es importante considerar si los fondos utilizados para desarrollos en genómica no restan recursos al sistema de cuidado básico en salud. Sobre este punto hay opiniones encontradas. Por ejemplo, Rabinowicz<sup>13</sup> considera que algunos ejemplos exitosos en genómica tanto en Argentina como en Brasil, han demostrado lo contrario. El argumento es que la genómica genera nuevos recursos -"expertise"- y que también promueve la transferencia tecnológica, lo cual permite la participación en iniciativas internacionales, y la obtención de fondos para el desarrollo que frenen el drenaje constante de científicos al exterior.

Todo esto genera importantes desafíos éticos que son complejos y cambiantes, porque cada sociedad difiere en las creencias religiosas, estructuras sociales y prácticas culturales. Estos desafíos éticos se presentan en relación con el consentimiento informado, la privacidad y la confidencialidad; y también en temas que atañen solamente a las mujeres, como es el caso del aborto ilegal, cuando se ofrece diagnóstico prenatal, o los abortos realizados por selección de sexo. Es necesario el desarrollo de un marco ético que pueda incluir los distintos temas éticos de justicia y de adjudicación de recursos para nuestros países.

### **Aspectos éticos, legales y sociales**

En relación a los aspectos éticos, legales y sociales se deben considerar los siguientes temas:

- Inequidad en el acceso a los servicios genéticos
- El hecho de que el aborto sea ilegal -aún por razones genéticas- contribuye a que el acceso al diagnóstico prenatal se restrinja al sector privado, y a que la interrupción del embarazo en forma segura esta limitado a grupos con recursos económicos.
- La privacidad de la información genética presenta dificultades.
- La discriminación, tanto hacia la discapacidad como a los pacientes con enfermedades genéticas, así como la exclusión de los pueblos indígenas y segregación de portadores de anemia falciforme.

- La no regulación de los tests genéticos, lleva a la introducción de tests genéticos predictivos por razones comerciales, que no son validados ni acompañados de un adecuado asesoramiento genético.

- Los modelos de consentimiento informado que se utilizan en la investigación genética.

Los países de la región deben tener sistemas de regulación adecuados para evaluar la seguridad y efectividad de las tecnologías y descubrimientos genómicos, que sean previos a su introducción en el sistema de salud. Es de hacer notar que la mayoría de estos servicios son provistos por instituciones privadas, porque los gobiernos no consideran que tales servicios, ni los tests genéticos sean prioritarios para el sistema público de salud. Esta es la razón por la cual el análisis cromosómico, el diagnóstico prenatal y los tests de paternidad -considerados económicamente provechosos- son desarrollados por el sector privado, al que sólo pueden acceder las minorías adineradas.

Es imprescindible transformar el consentimiento informado en un proceso educativo significativo, en el que los pacientes comprendan las implicaciones de las pruebas genéticas y cuáles son sus derechos; que estén libres de toda coerción. Además, es indispensable que en los centros existan normas con respecto a la privacidad y confidencialidad de la información genética.<sup>14</sup>

## **Conclusiones**

Muchas veces se discute acerca de suspender los avances científicos, pero lo que se discute, en realidad, son los límites que se deben trazar en el uso de ciertas técnicas. No todo lo que es científicamente posible y tecnológicamente viable es necesariamente deseable o admisible. Existen numerosos aspectos del progreso del conocimiento y de la tecnología, que cuestionan nuestros valores y nuestros principios fundamentales: por ejemplo, el respeto a la vida y al individuo, en el caso de la clonación y en algunos aspectos de la ingeniería genética; el respeto a la privacidad, en el de algunas aplicaciones de las tecnologías de la información; o nuestras obligaciones con respecto a nuestros descendientes, en el caso de las posibilidades de modificación del clima y el medio ambiente planetario, etc.

Las repercusiones y consecuencias éticas del progreso científico y tecnológico son especialmente perceptibles hoy en día en los ámbitos de la genética y la biotecnología, pero no se limitan, por supuesto, a estos dos campos. La evolución esperada de las neurociencias, de la tecnología de lo virtual, o incluso de la robótica y la inteligencia artificial, por ejemplo, no dejan de suscitar interrogantes desde este punto de vista.<sup>15</sup> La cuestión de las relaciones entre la ciencia y la libertad reviste en realidad una doble forma: libertad de investigación y libertad de acceso a los conocimientos. En nuestros países, los investigadores son formalmente libres. Ello no significa, sin embargo, que lo sean siempre materialmente. Las limitaciones que impone la influencia cada vez más importante de las consideraciones económicas y los intereses industriales y comerciales en la investigación, les dejan a menudo muy pocas posibilidades de elegir el objeto de su investigación y la manera de realizarla.

Es posible que se produzca una cierta tensión entre esta libertad y otros valores éticos, pero se trata, en cualquier caso, de un elemento fundamental de nuestra concepción del mundo. Dentro de



los límites que impone el respeto de los principios éticos y morales debe defenderse y promoverse con determinación el principio de la libertad de investigación.

El tratamiento de la cuestión del riesgo tecnológico y, más en general, de las cuestiones relativas a "ciencia y sociedad", exige el desarrollo de nuevas formas de diálogo entre investigadores, expertos, responsables políticos, industriales y ciudadanos.

La cuestión de la libertad de acceso a los conocimientos, se ha planteado con especial virulencia en el caso del descifrado de los genomas de los organismos vivos, y más concretamente del acceso a los resultados de los trabajos de secuenciado del genoma humano.

Se plantean aquí dos cuestiones relacionadas aunque independientes, el secreto y la patentabilidad<sup>16</sup>, cuya complejidad queda acentuada por sus implicaciones económicas<sup>17</sup>. El principio de la libertad de acceso a los conocimientos ha sido tratado durante la discusión del desciframiento del genoma humano.<sup>18</sup> Finalmente, ¿cuáles deben ser los requisitos para que la sociedad esté en condiciones de decidir?

Ante todo es indispensable una lectura crítica de la producción científica, y la sociedad debe estar claramente informada sobre riesgos y beneficios; para ello es esencial la educación científica en todos los niveles de enseñanza, y esta enseñanza les concierne tanto a los que se dedican a las ciencias "duras" como a los que se consagran a las disciplinas sociales, ya que la ciencia, y especialmente la evaluación de los riesgos del progreso científico, siempre puede enriquecerse con la incorporación de otro tipo de saberes y disciplinas.

El diálogo entre sociedad y ciencia es necesariamente un diálogo en los dos sentidos: cada parte debe expresarse pero, al mismo tiempo, escuchar a la otra. Sin embargo, el diálogo de los ciudadanos con los investigadores y los expertos será más fértil, y más elevada su capacidad para debatir con conocimiento de causa las cuestiones relativas a "ciencia y sociedad", cuanto más profundos sean su conocimiento y su comprensión de la ciencia y la tecnología.

El objetivo no puede ni debe ser obtener de la población una actitud sistemáticamente favorable, sino crear las condiciones necesarias para un debate democrático con conocimiento de causa.

Como dijo Albert Einstein: *"Es primordial que el gran público haya tenido ocasión de hacer la experiencia - conciente e inteligentemente - de las actividades y resultados de la investigación científica. No es suficiente que algunos especialistas del área tomen los resultados y los apliquen. Limitando el cuerpo de conocimientos a un pequeño grupo se mata el espíritu filosófico de un pueblo y se crea un vacío sobre el plano espiritual"*.<sup>19</sup>

## **Agradecimientos**

A Víctor Penchaszadeh, el envío de los artículos relacionados con los servicios de genética en América Latina. A María Julia Bertomeu por la lectura crítica del manuscrito.

## Bibliografía

- <sup>1</sup> Penchaszadeh VB: Community genetic services in Latin America. Challenges and perspectives *Community Genet* 2000; 3:124–127.
- <sup>2</sup> World Health Organization: Services for the Prevention and Management of Genetic Disorders and Birth Defects in Developing Countries. A Joint WHO/WAOPBD Meeting. The Hague, 5–7 January 1999. WHO/HGN/GL/WAOPBD 1999.
- <sup>3</sup> Penchaszadeh VB. Medical Genetics in Latin America. *Community Genet* 228-T1. 2004 .1-8.
- <sup>4</sup> Community genetic services in Latin America and regional networks on medical genetics. 2004. Report of a WHO Consultation Porto Alegre, Brazil, 19 June 2003. Human Genetics Programme / World Health Organization WHO/HGN/WG/04.01.
- <sup>5</sup> Barraza, Ximena “Evaluación de la propuesta de ampliación de las patologías estudiadas por el método de cribado universal en recién nacidos, en Chile”. Monografía presentada en el Curso: “Bioética en la ciencia: Una introducción”. UNU-BIOLAC. Buenos Aires, Octubre, 2004.
- <sup>6</sup> Sommer, Susana E. *Genética, clonación y bioética*. Editorial Biblos, Buenos Aires, 1998. 97-98.
- <sup>7</sup> Censo de Recursos en Genética Médica en Argentina y promoción de una Red Nacional realizado por Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Centro Nacional de Genética Médica y Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS). 2004
- <sup>8</sup> Report of the Advisory Committee on Health Research, WHO .2002. Documento anexo al Censo realizado por el Centro de Estudios Epidemiológicos.
- <sup>9</sup> Jelovsek, Frederick R. What Genetic Screening is needed during Pregnancy? *GYNO*. 2008 <http://www.wdxcyber.com/npreg08.htm>
- <sup>10</sup> Costa, María Victoria y Susana E. Sommer. “Women's reproductive rights and public policy in Argentina”, *Bioethics in Latin America*, Arleen Salles & Maria Julia Bertomeu (eds.), Rodopi, Amsterdam, 2002. 53-74
- <sup>11</sup> Rosner, Jennifer. “Lullabies for Sophie” , *Hastings Center Report* 34, ? 6(2004) 20-21
- <sup>12</sup> Global Forum for Health Research. 2004.10/90 Report on Health Research 2003-2004. 282 pages. ISBN 2-940286-16-7
- <sup>13</sup> Rabinowicz, Pablo D. “Genomics in Latin America; reaching the frontiers”, *Genome Research* 11:319-322. 2001.
- <sup>14</sup> Una médica está completando una tesina acerca de la “Valoración del estado actual de la práctica del consentimiento informado por los profesionales de los servicios de genética médica de la ciudad de Buenos Aires”<sup>14</sup> dentro del marco de la Maestría de Biología Molecular Médica, UBA.
- <sup>15</sup> Ciencia, sociedad y ciudadanos en Europa. Comisión de las Comunidades Europeas, Bruselas, 24.11.2000 SEC (2000) 1973, [http://idcrue.dit.upm.es/documentacion/Comision\\_1/Otras\\_Politicasyrelacionadas/SEC\\_2000\\_1973.pdf](http://idcrue.dit.upm.es/documentacion/Comision_1/Otras_Politicasyrelacionadas/SEC_2000_1973.pdf)
- <sup>16</sup> Bertomeu, María Julia & Susana E. Sommer. Patents on Genetic material: a new originary accumulation en Anne Donchin, Sue Dodds, and Rosemarie Tong (editors). *Linking Visions, Feminist Bioethics, Human Rights and the Developing World*, Rowman & Littlefield, 2004.
- <sup>17</sup> El tema de la extensión de los derechos de propiedad de las secuencias génicas a través de las patentes ha sido discutido por Bertomeu y Sommer

<sup>18</sup> Sulston, John. & Georgina Ferry. *El hilo común de la humanidad. Una historia sobre la ciencia, la política, la ética y el genoma humano*. Madrid, siglo XXI de España. 2003.

<sup>19</sup> Citado por Ricardo Ehrlich .2001. en "Organismos genéticamente modificados. La hora de las decisiones" *Organismos genéticamente modificados*. (Marin, et al., editores) Montevideo, Dirac, Trilce.

 **QuímicaViva**

ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 7, diciembre 2008

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)

## El lenguaje químico de la interacción inmune-neuroendócrina

Luciana Larocca, Mario Calafat, Valeria Roca, Rosanna Ramhorst y Claudia Pérez Leirós

Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Universidad de Buenos Aires-CONICET.

Email: [cpleiros@qb.fcen.uba.ar](mailto:cpleiros@qb.fcen.uba.ar)

Recibido: 30/06/08. Aceptado: 07/07/08

### Resumen

En un esquema simplificado del organismo de un mamífero que responde en forma adaptativa frente a estímulos externos, la fisiología y otras ciencias biomédicas basadas en la evidencia sostuvieron hasta mediados del siglo pasado que el sistema nervioso respondía a los estímulos neurosensoriales mientras que el sistema inmune lo hacía frente a la posible entrada de un organismo extraño. Cada uno con su identidad de células, compartimientos y mediadores, aislado del otro. Las evidencias que se describen brevemente a continuación prueban la hipótesis de una interacción química y molecular bidireccional mediada por citoquinas y neurotransmisores que pueden actuar sobre las células de ambos sistemas. Es posible ahora comprobar observaciones hechas desde los primeros registros de las ciencias de la salud sobre la relación de los estados emocionales-afectivos, con la susceptibilidad a contraer enfermedades y, en sentido inverso, acerca de la influencia de las enfermedades infecciosas sobre los estados de ánimo y conductas en una aparente interacción bidireccional. La descripción de las estrategias experimentales para acceder a ese conocimiento se privilegió por sobre los detalles de los resultados con el fin de estimular la curiosidad sobre este nuevo enfoque.

**Palabras clave:** neurotransmisores – citoquinas – neuroinmunomodulación - inflamación

### Biochemical clues to the neuroimmune cross-talk

#### Abstract

In a simplified scenario where a mammalian organism responds to external stimuli in an adaptive way, physiology, among other evidence-based biomedical sciences, supported the notion that nervous system was the one to reply upon neurosensitive stimuli whilst the immune system had to manage with foreign organisms. Each provided with their own signals within isolated compartments. Evidence briefly presented herein support the hypothesis of a bidirectional chemical and molecular interaction between both systems with cytokines and neurotransmitters acting on cells from either system. It seems plausible now to comprehend the rationale of early observations made on the first records of life sciences about the influence of affective states on disease susceptibility and, conversely, about the effect of infectious

diseases on mood and behavior. We chose to describe more deeply the experimental strategies that led to scientific knowledge than the results obtained, in an attempt to stimulate the curiosity on this novel approach.

**Key words:** *neurotransmitters – cytokines – neuroimmunomodulation - inflammation*

## Introducción

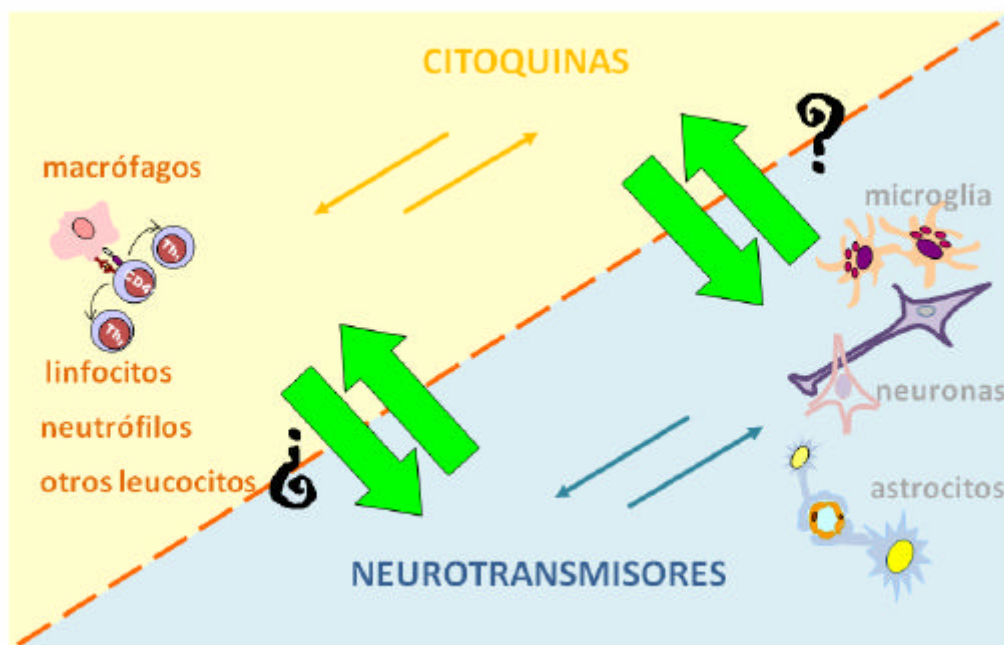
Imaginemos, por un rato nada más, que nuestro organismo es algo tan simple como un conjunto de sistemas altamente organizado que recibe estímulos externos y responde frente a ellos en forma adaptativa.

En un esquema súper-simplificado como éste, entonces, podríamos reducir las características de los estímulos externos a dos variedades principales: aquellos ligados a percepciones, sensaciones y estímulos ambientales como por ejemplo, luz, calor, dolor, que en general llamaremos *neurosensoriales*; y otros relacionados a potenciales “agentes con capacidad de invadir el medio interno”, como por ejemplo los microorganismos, a los que nos referiremos como *inmunológicos*.

Para responder a estos dos tipos de estímulos el organismo cuenta, en el esquema simple que nos propusimos, con dos sistemas: el *sistema nervioso* y el *sistema inmunitario*. El primero, con una sorprendente y apenas conocida capacidad de articular respuestas, se estructura a partir de células neuronales (neuronas) conectadas en redes que reciben y transmiten estímulos nerviosos, y células no neuronales (astrocitos, células microgliales, oligodendrogliales y ependimarias) con funciones de sostén mecánico y metabólico, revestimiento, nutrición y defensa, entre otras. Estas células se distribuyen en el sistema nervioso central y periférico manteniendo un ámbito aislado del resto de los sistemas del organismo. Tal aislamiento se debe a la disposición -formando uniones estrechas- de las células endoteliales de revestimiento de los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro, estructura anatómico-histológica conocida como barrera hematoencefálica. Se estima que el sistema nervioso en la especie humana cuenta con un número de neuronas en el orden de  $10^9$  que se conectan por circuitos redundantes con una insospechada capacidad de almacenamiento y comunicación de la información, atributos necesarios para cumplir funciones primarias como la adaptación al medio y supervivencia así como para funciones superiores como la memoria y el aprendizaje. La transmisión de información entre estas células se da por distintos mecanismos de comunicación intercelular. Por su alto grado de especificidad, plasticidad y distribución, la comunicación más destacable entre células nerviosas es química y sus mediadores son unas moléculas llamadas *neurotransmisores*. Existen neurotransmisores de diversa estructura química, desde aminoácidos y aminoras pequeñas a péptidos, lípidos, proteínas; incluso hace pocos años se describió la neurotransmisión mediada por moléculas inorgánicas tan simples como el óxido nítrico.

Por su parte, el sistema inmune se organiza a partir de las células inmunes que podemos agrupar en leucocitos polimorfonucleares, eosinófilos y basófilos, linfocitos T y B, monocitos-macrófagos, y

algunas células más específicas de tejidos como los mastocitos. Proviene mayoritariamente de un origen embriológico distinto a las células nerviosas, sin embargo comparten con ellas características de número, especificidad en la comunicación y función cuyos detalles serán el objeto de esta revisión. Las células inmunes se comunican entre sí por medio de interacciones celulares de alta especificidad mediadas por moléculas de membrana, así como por mediadores solubles como las citoquinas y quimioquinas.



**Figura 1: Citoquinas y neurotransmisores en el diálogo neuroinmune.** Las células del sistema inmune como macrófagos, linfocitos y otras producen citoquinas como mediadores que actúan sobre receptores expresados en las mismas regulando la respuesta. Las células del sistema nervioso, principalmente las neuronas, liberan neurotransmisores que actúan sobre receptores en ellas y también en diversos tejidos. Flechas verdes gruesas refieren a la pregunta del título y refuerzan las evidencias acerca de las células de ambos sistemas que sintetizan y liberan los mediadores solubles del otro, y que responden a esos estímulos a través de la activación de receptores.

Volviendo al esquema simple de respuestas adaptativas frente a estímulos externos, la fisiología y otras ciencias biomédicas basadas en la evidencia sostuvieron hasta hace pocos años que el sistema nervioso respondía a los estímulos neurosensoriales mientras que el sistema inmune lo hacía frente a la posible entrada de un organismo extraño. Cada uno con su identidad de mensajeros y receptores y aislado del otro. En cuanto al estímulo provocado por microorganismos, los “potenciales invasores”, es interesante comentar que nuestro organismo –dejando ver algunos rastros de la evolución- reacciona frente a cualquier daño en la continuidad de sus “fronteras o barreras defensivas” como si este daño implicara la pérdida de la asepsia. Así, no importa si el daño de un tejido traerá aparejada o no una

infección, el sistema de defensa reacciona como si la hubiere, montando una respuesta estereotipada conocida como *respuesta inflamatoria*. Es importante destacar que dicha respuesta es un mecanismo fisiológico, necesario para frenar procesos de daño tisular por estrés mecánico, químico o infecciones, pero que también subyace a numerosas condiciones de salud como la implantación embrionaria. Por este motivo, su tratamiento con fármacos se indica sólo cuando suscita dolor o cuando se sobrepasan los niveles de respuesta hacia una respuesta inflamatoria descontrolada o excesiva. La respuesta inflamatoria aguda o innata, además, está en la base de la respuesta adaptativa inmunitaria que concita la presentación antigénica con acción de anticuerpos y células T y B de alta especificidad.

### **¿Cómo 'dialogan' el sistema nervioso y el sistema inmune?**

Desde tiempos remotos se registraron observaciones sobre la relación de los estados emocionales, afectivos –nerviosos- con la sensibilidad a las infecciones –inmunológicos- y, en sentido inverso, acerca de la influencia de las enfermedades infecciosas sobre los estados de ánimo en una aparente interacción bidireccional. Sin embargo, las evidencias científicas sobre esa interacción sólo podían intuirse con escasa evidencia probatoria. Por ejemplo, experimentos pioneros de Ader & Cohen en el paradigma del reflejo condicionado de Pavlov mostraron la modificación de algunos parámetros inmunológicos (Ader 1975). Como suele ocurrir en los descubrimientos científicos y en la adquisición y validación de conocimiento en un área determinada de las ciencias experimentales, el avance está muy relacionado con el contexto cultural y con las herramientas de conocimiento y experimentación disponibles en cada momento. Así, mientras la cultura occidental de mediados del siglo XX continuaba interesada en la comprensión del papel del lenguaje, las comunicaciones y sus códigos; en el ámbito de la ciencia se aportaba a la comprensión de los mecanismos de comunicación intercelular, los receptores, los mediadores -sus componentes bioquímicos y moleculares- con el fin de desarrollar estrategias terapéuticas para las enfermedades. Al mismo tiempo, se intentaba comprender el funcionamiento del cerebro y la decodificación de mensajes a todos los niveles: molecular, celular, orgánico e individual. Para ese momento, la inmunología había empezado a hacer avances notables en la experimentación y era posible cultivar células, aislar y medir mediadores solubles, conducir ensayos en animales de experimentación *endocriados* que facilitaban el análisis de especificidad, etc. Las neurociencias, para esa época, disponían de mucha y variada información sobre enfermedades que afectan al sistema nervioso, mucha menos sobre los mecanismos de enfermedad y realmente escasa acerca de la comunicación dentro del sistema nervioso central. No contaban con la posibilidad de cultivar neuronas ni analizar la neurotransmisión a un nivel celular ni molecular, menos aún en sistemas *in vivo* como lo permiten en la actualidad los diversos dispositivos y equipos de detección y procesamiento de imágenes del cerebro. Esto explica, en parte, que los primeros experimentos *in vitro* para tratar de contestar la pregunta del título fueran diseños que proveían más información inmunológica que nerviosa.

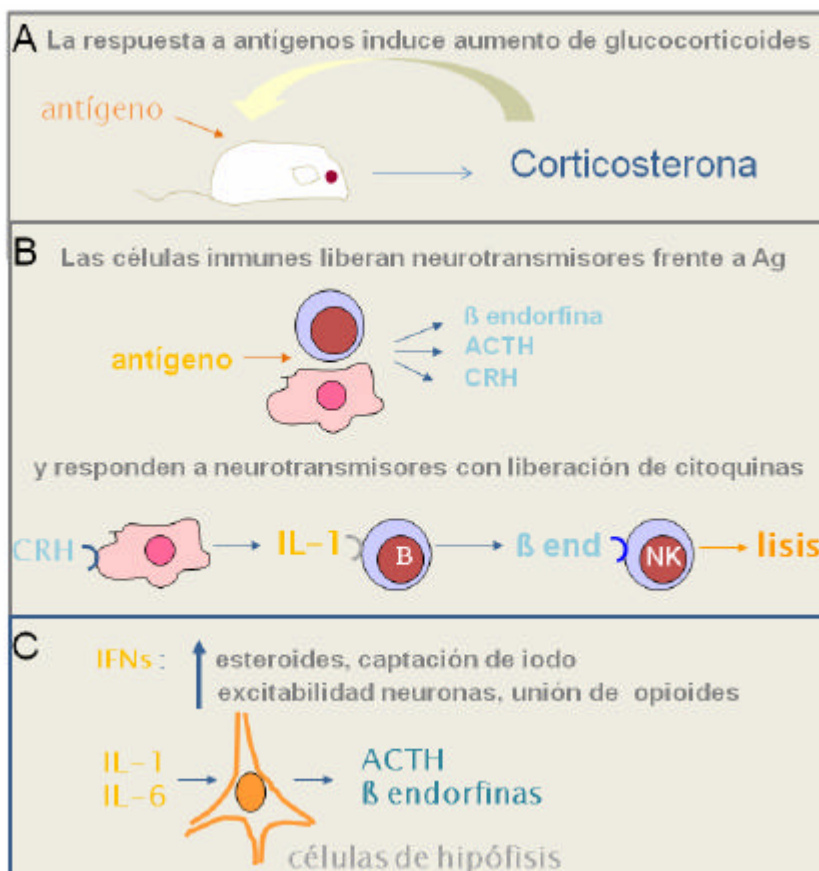
Fue justamente en la década del setenta cuando la interacción de los sistemas nervioso e inmune tuvo las primeras evidencias científicas que la respaldaran y una de las más tempranas provino de un investigador argentino trabajando en Alemania, Hugo Besedovsky (Besedovsky 1975). Besedovsky

demostró que la inyección en ratones de un antígeno (eritrocitos de carnero) que conduce a una respuesta inmune sin interferencia de efectos causados directamente por microorganismos, inducía un aumento de hormonas asociadas al estrés (glucocorticoides) en la sangre (Figura 2 A). Los glucocorticoides, a su vez, tenían efecto inmunosupresor. Los autores, en el trabajo original, refieren su carácter preliminar -*“These findings while admittedly preliminary, suffice to provide an indication of a temporal pattern of hormonal change during the immune response which could be important in immunoregulation”*<sup>1</sup>-, sin embargo, estos resultados preliminares fueron fundantes de una nueva disciplina conocida como *Neuroinmunoendocrinología*. Tal como se dijo más arriba, a estos experimentos los sucedieron a fines de los años 70 otros realizados con variados enfoques inmunológicos y bioquímicos, entre los cuales se destacan los de J. Edwin Blalock, otro de los fundadores de la disciplina (revisados en Blalock 1994). Se demostró que las células inmunes liberan neurotransmisores, que pueden responder a los mismos y que a través de esas interacciones ligando-receptor se establecen comunicaciones autocrinas y paracrinas que modulan la respuesta a un antígeno (figura 2 B).

---

<sup>1</sup> Traducción del autor: Estos hallazgos, aunque admisiblemente preliminares, alcanzan para indicar un esquema temporal de regulación hormonal durante una respuesta inmune que podría ser importante en la inmunoregulación.





**Figura 2: Primeras evidencias de la interacción bioquímica y funcional de los sistemas inmune y neuroendocrino.** Los resultados que avalaron la interacción bioquímica y funcional se relatan en el texto y se describen en detalle en las citas 6, 7 y 12. *ACTH*: corticotrofina u hormona adrenocorticotrófica; *CRH*: hormona liberadora de corticotrofina; *βend*: β-endorfina; *Ag*: antígeno; *B*: linfocitos B, *NK*: células inmunes *Natural Killers*; *IFNs*: interferones.

El grueso de la información sobre la interacción inmune-neuroendocrina estuvo dedicado al sentido de la flecha “*neuroendocrino hacia inmune*” durante los primeros 20 años hasta que los métodos disponibles permitieron verificar científicamente numerosas observaciones sobre los dos sentidos de esta interacción (del Rey 1996, Blalock 2002, Sternberg 2006, Cutolo 2007). Se demostró la innervación de los tejidos linfáticos, se describieron numerosos receptores para neurotransmisores en células inmunes y, en sentido inverso, se probó que las neuronas tienen receptores para citoquinas y quimioquinas y que las producen ante determinados estímulos (figura 2 C).

Uno de los puntos de vista más novedosos e interesantes que ofrece la *neuroinmunoendocrinología* es la comprensión de los mecanismos de enfermedad en ciertos desórdenes multifactoriales como las enfermedades autoinmunes, algunas infecciones como la enfermedad de Chagas o la tuberculosis y su proyección contribuye al estudio de muchos otros de causas desconocidas (Pérez Leirós 1997, Correa de Santana 2006, Botasso 2007). También vale comentar que una especialidad derivada de ésta es la

*psiconeuroinmunoendocrinología* en la cual se están dando los primeros pasos hacia una concepción química y molecular de los desórdenes afectivos. Sin embargo, en nuestra opinión, este “enfoque químico-molecular” de los estados de ánimo, las conductas y las emociones -y sus trastornos- requiere mucha más evidencia científica que la que se encuentra disponible y que podrían aportar en el futuro la inmunología, la química, la biología molecular, entre otras ciencias experimentales.

### **Citoquinas y neurotransmisores como mediadores químicos de la interacción neuroinmunoendocrina.**

Una vez aceptado que las citoquinas son algunas de “las palabras” del sistema inmune, los neurotransmisores las del sistema nervioso, y estos sistemas “conversan” entre sí; una de las preguntas que más convocó a los científicos fue qué citoquinas producen cambios de comportamiento y qué neurotransmisores modulan respuestas inmunes. Este objetivo entrañaba el noble propósito de buscar entre ellos posibles candidatos (u otras drogas que las mimeticen) capaces de modular funciones o enfermedades nerviosas e inmunológicas. Dado lo extenso y variado del tema, en las secciones siguientes y a modo de ejemplo elegimos comentar parte de la información disponible sobre una citoquina con acción en el sistema nervioso y la de un neurotransmisor que actúa en el sistema inmune. Entre las numerosas citoquinas que han demostrado tener algún papel en la interfase inmune-neuroendocrina haremos referencia particularmente a la interleuquina 1 (IL-1) dado su carácter de mediadora de estos sistemas tanto en procesos fisiológicos como patológicos. Para describir los resultados obtenidos vamos a empezar con el efecto IL-1 asociado a cambios de comportamiento durante estados de enfermedad y luego referiremos su papel fisiológico en la adquisición de memorias y en el aprendizaje. En otra sección comentaremos efectos inmunes de un neuropéptido, el péptido intestinal vasoactivo (VIP). Y en la última parte describiremos algunos datos acerca de la integración que hace el sistema nervioso de la información periférica asociada al inicio y desarrollo de una respuesta inmune.

#### **Funciones neuroendocrinas de una citoquina: el caso de la interleuquina 1.**

La IL-1 fue descubierta en 1979 y se la describió inicialmente como uno de los primeros mediadores proteicos liberado por los macrófagos ante un estímulo inflamatorio. Tiene la capacidad de sostener la respuesta inflamatoria así como de iniciar la respuesta inmune adaptativa por su acción sobre linfocitos T con la posterior secreción de IL-2 e IFN $\gamma$ . A partir de experimentos realizados en la década del 80 se la ha propuesto como una citoquina con efectos en el sistema nervioso, tanto en infecciones en el SNC como en procesos neurodegenerativos, y más recientemente como mediador fisiológico de funciones cognitivas. Las aproximaciones experimentales que se emplearon para realizar los hallazgos que comentaremos son: la administración de IL-1 recombinante a animales de experimentación; la identificación de esa citoquina en determinados circuitos, en ciertas conductas, en estados patológicos o en el tratamiento de pacientes con drogas como el interferón que genera la producción de una cascada

de citoquinas; y, de desarrollo más reciente, el uso de animales en los que ha sido silenciado el gen de determinada citoquina (*knock out*).

Cuando responden a una infección, una de las características de los mamíferos que ha sido ampliamente descrita -y conservada en la evolución- es el estado conocido como *sickness behaviour*, lo que podríamos traducir como *estado febril*. Es el que acompaña, justamente, a muchas infecciones virales y bacterianas, en las que se manifiestan cambios de conducta como sueño, fatiga, decaimiento, anorexia, fiebre, disminución de la locomoción, de la libido y, por ejemplo en roedores, de la conducta exploratoria. En respuesta a la inyección de lipopolisacáridos (LPS), la IL-1 es de los primeros mediadores liberados en grandes cantidades por células centinelas como los macrófagos en tejidos periféricos y en el tejido nervioso por los astrocitos y células microgliales (Inui 2001). La administración de IL-1 $\beta$  provoca sueño, fiebre y anorexia en ratones (Licinio 1998). Con respecto a la anorexia, la IL-1 $\beta$  excita neuronas sensibles a glucosa del núcleo ventromedial del hipotálamo que controlan una reducción en el tamaño de las porciones ingeridas y en la duración de la ingesta (Plata-Salaman 1998). Asimismo, esta citoquina inhibe la actividad de neuronas del área hipotalámica lateral asociadas al intervalo entre ingestas. La IL-1 $\beta$  inyectada en ratones directamente en el SNC (inyección *intracerebroventricular*) causa saciedad temprana con aumento del intervalo entre comidas (Plata-Salaman 1998). La saciedad ocurre a concentraciones de la citoquina en líquido cefalorraquídeo similares a las fisiopatológicas, mientras que el cambio en la frecuencia de las ingestas requiere dosis mayores, comúnmente referidas como dosis farmacológicas. Los ratones *knock out* para el receptor de IL-1 $\beta$  no desarrollan estos signos ante la inducción de una respuesta inflamatoria (Zheng 1995). A su vez, los ratones deficientes en IL-1 $\beta$  resultaron resistentes a la anorexia y pérdida de peso inducidos por los terpenos de la trementina (*turpentine*), un compuesto que causa inflamación localizada en el sistema nervioso central (SNC), pero no así cuando se inyectaron en forma sistémica con LPS (Zheng 1995). Finalmente, los ratones deficientes en la enzima que convierte IL-1 en su forma madura y activa no mostraron anorexia cuando se les administró LPS pero sí cuando se administró la citoquina por vía sistémica, indicando que la IL-1 $\beta$  es una citoquina crucial para la regulación de la ingesta, particularmente cuando el estímulo está localizado en el SNC (Inui 2001). Los resultados obtenidos con experimentos similares para detectar efectos de IL-1 sobre la fiebre indican que también regula el aumento de temperatura mediado por prostaglandina E<sub>2</sub>, responsable de la fiebre inducida por la respuesta inflamatoria a la trementina (Inui 2001).

Con respecto a la relación de IL-1 con las respuestas neuroendocrinas, pueden encontrarse numerosas revisiones sobre los efectos de IL-1 en el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal y sus mecanismos de regulación negativa (Sternberg 2006). Ciertamente, el establecimiento de una respuesta inmune pone en marcha, junto con la liberación central y periférica de IL-1, diversos procesos mediados por la síntesis y liberación de glucocorticoides por parte de la hipófisis. Estas hormonas esteroides tienen una alta potencia anti-inflamatoria y, en los niveles circulantes endógenos que se detectan *a posteriori* de una respuesta inmune, se ha demostrado un efecto inmunoregulador a nivel molecular con un balance de la respuesta inmune hacia un fenotipo Th<sub>2</sub> (Lieberman 2007). Además, dado que los glucocorticoides

aumentan en forma sostenida durante el estrés crónico, se han aportado numerosas evidencias para explicar la asociación entre el estado de estrés crónico y la mayor susceptibilidad de contraer infecciones u otras enfermedades con un fuerte componente inmunológico como son los desórdenes autoinmunes (Marques-Deak 2005, Cutolo 2007). Este tema es revisado continuamente y también da lugar a muchas especulaciones y controversias acerca de la influencia del estrés y la respuesta inmune en situaciones clínicas para las que se están aportando un número cada vez mayor de pruebas científicas y se intentan modelos más sofisticados de conducta que las justifiquen.

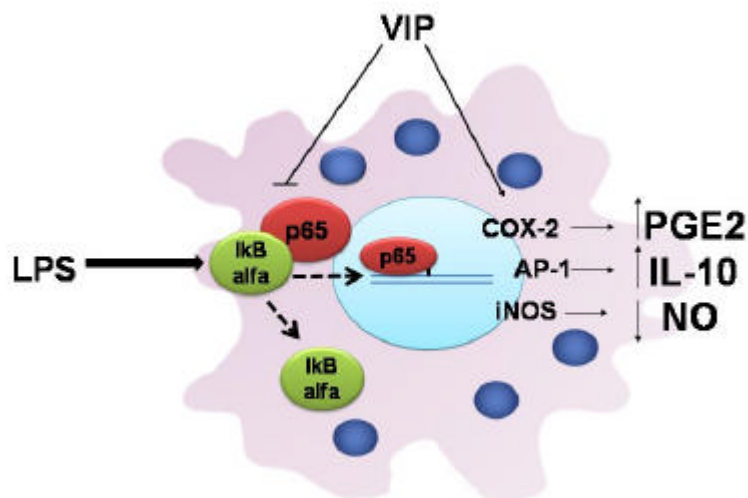
En relación a los efectos de IL-1 sobre el SNC en condiciones fisiológicas, las evidencias avalan la hipótesis de un efecto modulador sobre la formación de memorias en distintos experimentos de memoria asociativa. La potenciación de larga duración (LTP) es un aumento sostenido de la transmisión y la actividad sináptica establecido por la neurofisiología como modelo para el estudio de los mecanismos que subyacen al aprendizaje y la memoria. Estudios de LTP *in vivo* e *in vitro* permitieron deducir el papel de la IL-1 endógena en aspectos relacionados con el almacenamiento de memorias. La LTP induce expresión y liberación de concentraciones fisiológicas de IL-1 en el hipocampo, mucho menores que las de una respuesta inflamatoria; la IL-1 $\beta$  participa en la inducción de LTP y el antagonista endógeno de IL-1, *IL-1ra*, bloquea dicha inducción (Schneider 1998). El efecto de IL-1 para sostener la potenciación *in vivo* e *in vitro* es a través de dar soporte metabólico a las neuronas activadas (aumenta su captación de glucosa) generando una facilitación de la plasticidad nerviosa y del procesamiento de memorias en el hipocampo (Schneider 1998, Jankowsky 2000, Avital 2003). En un modelo de consolidación de memoria asociado al aprendizaje en ratones se demostró un efecto modulador de la IL-1 $\alpha$  endógena del hipocampo (Depino 2004). Es interesante comentar que los efectos de la IL-1 sobre la LTP son contrapuestos a los de otra citoquina, la IL-6, la cual devendría entonces en una 'citoquina para olvidar' según lo publicado en un trabajo que los autores han titulado "*IL-6: A cytokine to forget*" y donde postulan un balance fisiológico de IL-1 e IL-6 endógenas en ciertas funciones cognitivas (Balschun 2004).

Finalmente, estudios recientes confirman y extienden observaciones de 1987 acerca del efecto hipoglucemiante de la IL-1 (del Rey 1987) demostrando que la citoquina endógena en el SNC y en condiciones normales regula la homeostasis de glucosa a través de "re-setear" sus niveles en forma independiente de insulina y en respuesta a altos niveles de glucocorticoides, catecolaminas y glucagon (del Rey, 2006).

### **Funciones inmunes de un neuropéptido: VIP a modo de ejemplo**

El VIP es un neuropéptido descrito por primera vez en 1970 con funciones prosecretorias en intestino y glándulas exócrinas (Said & Mutt 1970). VIP es el cotransmisor más importante de acetilcolina en la secreción salival y lagrimal, además tiene efectos vasodilatadores y de mantenimiento de la quiescencia uterina durante la gestación por su acción sobre el músculo liso vascular (Ekstrom 1983). Además de los efectos periféricos nerviosos del VIP se propuso un papel en el sistema nervioso central asociado al dolor. Varios años después de su descripción como neurotransmisor, se observó que VIP era el neuropéptido más abundante en el sistema inmune y que mediaba efectos anti-inflamatorios e

inmunosupresores en distintos sistemas *in vitro* e *in vivo*. Así, se demostró que macrófagos estimulados *in vitro* con LPS simulando una respuesta inflamatoria, tenían una menor producción de citoquinas y mediadores pro-inflamatorios (IL-1, TNF, prostaglandinas) y una mayor producción de mediadores anti-inflamatorios (IL-10) cuando se pre-incubaban las células con VIP (Gomariz 2006). A su vez, se observó que las células inmunes producen VIP, se encontraron sus receptores en macrófagos y linfocitos T y se verificó su efecto sobre la respuesta inmune adaptativa *in vitro*. La posibilidad de utilizar este neuropéptido en el tratamiento de trastornos inflamatorios crónicos dio lugar a su ensayo en modelos experimentales de enfermedades inflamatorias estandarizados en ratones como la artritis reumatoidea inducida por colágeno o la enfermedad de Crohn por inyección de un derivado de benceno. En ambos casos el VIP demostró un potente efecto anti-inflamatorio con mejoramiento del daño de los tejidos y recuperación de funciones (Gomariz 2006). También fue ensayado en modelos espontáneos como la diabetes insulino-dependiente o tipo 1 que desarrollan los ratones de la cepa NOD (*non obese diabetic*) donde se probó que VIP disminuye la tasa de mortalidad y las lesiones en páncreas, en parte a través de un aumento de la respuesta Th2 y de células T regulatorias (Rosignoli 2006). En estos mismos ratones en etapas previas a la diabetes, cuando desarrollan una falla exocrina salival similar en algunos aspectos al Síndrome de Sjögren en humanos, se demostró que VIP modula negativamente la respuesta inflamatoria aunque con mecanismos de señalización intracelular distintos a los que presentan los ratones normales (Larocca 2007) (figura 3).



**Figura 3: VIP inhibe la respuesta inflamatoria en los macrófagos de ratones NOD.** El neuropéptido VIP inhibe la respuesta inflamatoria mediada por lipopolisacárido (LPS) en macrófagos aislados del peritoneo de ratones NOD (*non obese diabetic*). En el efecto inhibitorio de VIP sobre la producción de un mediador de la inflamación, el óxido nítrico (NO), se induce la liberación de interleuquina 10 (IL-10) y se requiere la activación de la enzima ciclooxigenasa 2 (COX 2) que sintetiza prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). *IκB alpha*, *P65*: (subunidades del factor nuclear NFκB): *IκB* es regulatoria y *P65* subunidad que se transloca al núcleo y activa la transcripción de genes pro-inflamatorios, entre otros.

Consistente con estas observaciones, su administración local en las glándulas mediante una terapia génica en la etapa pre-diabética reduce los efectos de sequedad salival (Lodde 2006). Los estudios del efecto de VIP en tejidos de pacientes se encuentran aún en fases iniciales, donde se demostró un efecto antirreumático en cultivos de células sinoviales aisladas de pacientes con artritis, por ejemplo (Arranz 2008). Por el momento, basados en estos resultados, se intenta desarrollar moléculas pequeñas de diseño que mimeticen los efectos del VIP para usarlo como anti-inflamatorio, ya que el péptido como tal no reúne las condiciones de biodisponibilidad y seguridad necesarias para su uso en pacientes en forma crónica.

### **Algunos resultados acerca de cómo el sistema nervioso integra respuestas nerviosas e inmunes de la periferia**

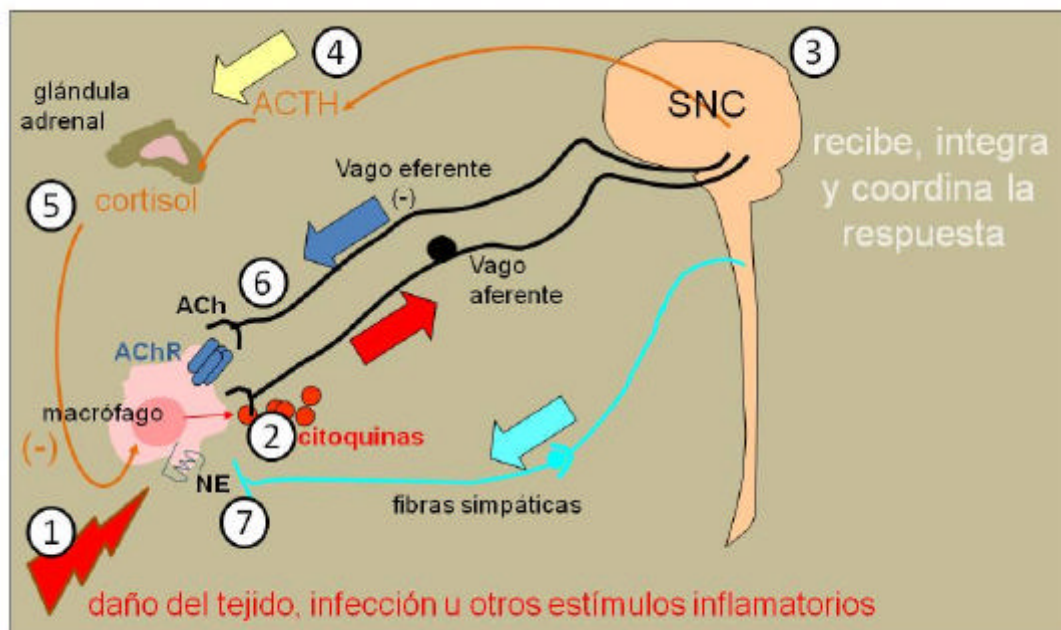
Gran parte de la información referida a la regulación e integración nerviosa de respuestas inmunes describe redes relativamente cortas entre el sistema inmune y el sistema nervioso periférico. Las mismas se sustentan anatómicamente y fisiológicamente en las evidencias comentadas antes sobre inervación nerviosa de órganos linfáticos, redes autocrinas y paracrinas con expresión de receptores y liberación de neurotransmisores o citoquinas. En cambio son más recientes las pruebas sobre redes más largas que vinculan a las respuestas inmunes con el sistema nervioso central.

En efecto, si bien la capacidad de “sentir” respuestas inmunes periféricas por parte del sistema nervioso central y responder en consecuencia era concebida en forma intuitiva, recientemente se han provisto distintas evidencias que sostienen esa hipótesis. Por un lado, se demostró mediante la expresión diferencial de *c-fos*, un marcador de activación neuronal, la activación de determinadas áreas y no de otras dentro del cerebro frente a respuestas inmunes periféricas del tipo injerto-contrahuésped o por inyección de ovoalbúmina (Furukawa 2004). Esto no sólo indica que el cerebro de algún modo registra el inicio y desarrollo de una respuesta inmune sino, además, que lo hace en ciertas estructuras de la corteza con mayor especificidad frente a ciertos estímulos inmunes como el *aloimmune* y en otras áreas cuando el estímulo es T-independiente. Más aún, el efecto en el cerebro también difiere -en cuanto a las áreas y neuronas activadas- del que causan la respuesta al LPS o al estrés apoyando su característica de especificidad y la necesidad de una síntesis endógena de citoquinas (Furukawa 2004).

Otra evidencia de la integración central de respuestas periféricas vinculadas al sistema inmune está dada por experimentos de respuestas conductuales condicionadas inducidas por estímulos gustativos apareados con la inyección de superantígenos. Se ha podido demostrar que los superantígenos bacterianos, tales como la enterotoxina B de estafilococo, inducen la proliferación de linfocitos T y la producción de IL-2 con eventos asociados como fiebre, activación del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal como prueba de su efecto en el sistema nervioso central. Recientemente se demostró también que si estos experimentos se realizaban con un protocolo asociado a condicionamiento de la conducta, podía observarse una integración nerviosa central de la respuesta inmune (Pacheco-Lopez 2004). Así, se aparearon dos estímulos, el condicionado fue la ingestión de una sustancia activa para el gusto como es la sacarina, mientras que el estímulo no condicionado fue el superantígeno administrado

por vía sistémica a ratas. Como controles se usaron ratas expuestas a la solución de sacarina pero inyectadas con solución salina en lugar del antígeno. Los animales que recibieron ambos estímulos juntos mostraron aversión al agua en los días subsiguientes con una reducción de alrededor de un 80% en el consumo, a diferencia de los controles que no habían sido inyectados con antígeno, sugiriendo que la respuesta condicionada observada se debe a la asociación entre información gustativa y el procesamiento de información inmunológica por el sistema nervioso. El mecanismo es desconocido aún pero a partir de experimentos lesionando selectivamente zonas del cerebro se propone que la amígdala podría estar involucrada. Del mismo modo, los experimentos antes descritos sobre “encendido” de ciertas áreas de la corteza frente a estímulos inmunes dan sustento a esta proposición (Furukawa 2004, Haas 1997).

Por último, recientemente se ha propuesto un circuito de neuroinmuno-regulación que postula que las aferencias sensitivas del nervio vago inervando directamente el sitio de inflamación reciben estímulos mediados por IL-1 y otros mediadores de síntesis rápida en los macrófagos y de liberación inmediata en los mastocitos como el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) (Figura 4).



**Figura 4: Regulación neuroinmunoendocrina de la respuesta inflamatoria.** Ante el daño de un tejido o una infección -estímulo inflamatorio (1)-, los macrófagos residentes en los tejidos se cuentan entre las primeras células que responden y lo hacen sintetizando y liberando numerosos mediadores como por ejemplo las citoquinas inflamatorias (2). Por mecanismos poco conocidos al presente, el sistema nervioso central es capaz de registrar esta respuesta e integrar la información periférica (3) para responder por medio de varios circuitos: Por un lado, hay un aumento de la liberación de adrenocorticotrofina (ACTH) (4) a la circulación sanguínea, ésta actúa en la corteza adrenal para liberar cortisol (5) que tiene efectos anti-inflamatorios. Por otro lado, la "información de inflamación" que llega por fibras aferentes del nervio vago al SNC activa una respuesta anti-inflamatoria (-) que se conduce por fibras eferentes vagales (6) que liberan el neurotransmisor acetilcolina (ACh). La ACh liberada en la cercanía de sus receptores (AChR) presentes en la membrana de los macrófagos inhibe la síntesis de citoquinas inflamatorias. Finalmente, hay evidencias de un efecto inhibitorio de la noradrenalina (NE) liberada por terminales simpáticas sobre receptores  $\beta$ -adrenérgicos de los macrófagos (7).

Según el trabajo del grupo recientemente revisado por su director (Tracey 2007), estas citoquinas asociadas al inicio de la respuesta inflamatoria serían el gatillo para la transmisión de información al SNC que, tras recibir e integrar el mensaje, respondería a través de fibras eferentes del nervio vago que liberan acetilcolina. A su vez, la acetilcolina actuando sobre receptores nicotínicos en los macrófagos acotaría la respuesta inflamatoria (Bernik 2002). Este circuito no sólo se sostiene en evidencias experimentales con sistemas *in vitro* e *in vivo*, sino que además podría explicar efectos beneficiosos de algunos tratamientos anti-inflamatorios e inmunosupresores como drogas colinérgicas, la nicotina, la estimulación eléctrica vagal o la acupuntura. Ésta última se valdría de la estimulación mecánica de fibras colinérgicas que al liberar acetilcolina en sus terminales cercanas a los macrófagos reducirían la inflamación.



### **Consideraciones finales**

La modulación inmune-neuroendocrina aporta un punto de vista integrador que permite comprender numerosas observaciones a nivel molecular, celular y conductual de fenómenos inmunes y nerviosos en individuos normales, y de las causas y consecuencias de enfermedades. El alto grado de inter-disciplina que requiere le imprime un aspecto novedoso para abordar el estudio de enfermedades inflamatorias de causa desconocida y multifactorial como así también neurodegenerativas. A la vez, la estricta interpretación de los resultados que se obtienen en cuanto a esta interacción en condiciones fisiológicas aparece como un punto de partida válido y adicional para la comprensión del funcionamiento del cerebro. Los ejemplos expuestos son una expresión mínima de la bibliografía disponible y, en cada caso, se ha privilegiado la descripción de las estrategias experimentales para acceder a ese conocimiento por sobre los detalles de los resultados, con el fin de facilitar la comprensión y estimular la curiosidad sobre este nuevo enfoque.

### **Agradecimientos**

PIP 5638 del CONICET, UBACyT X172 de la Universidad de Buenos Aires

### **Correspondencia a:**

Claudia Pérez Leirós

Investigadora del CONICET

Profesora de la UBA

Ciudad Universitaria, Pab. II, 4º piso

1428 Buenos Aires

Argentina

Tel/fax: 5411-4576-3342

Email: [cpleiros@qb.fcen.uba.ar](mailto:cpleiros@qb.fcen.uba.ar)

### **Referencias**

1. Ader & Cohen. Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psicosom Med* 37:333-340, 1975
2. Arranz A, Gutierrez Cañas J, carrion M, Juarranz Y, Pablos JL, Martinez C, Gomariz RP. VIP reverses the expression profiling of TLR4-stimulated signaling pathway in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Mol Immunol* 45:3065-3073, 2008.
3. Avital A, Goshen I, Kamsler A, Segal M, Iverfeldt K, Richter-Levin G, Yirmiya R. Impaired interleukin-1 signaling is associated with deficits in hippocampal memory processes and neural plasticity. *Hippocampus* 13: 826–834, 2003.
4. Balschun D, Wetzel W, del Rey A, Pitossi F, Schneider H, Zuschratter W, Besedovsky H. O. Interleukin-6: a cytokine to forget. *FASEB J* 18: 1788-1790, 2004.

5. Bernik T, Friedman S, Ochani M, DiRaimo R, Ulloa L, Yang H, Sudan S, Czura CJ. Pharmacological Stimulation of the Cholinergic Antiinflammatory Pathway. *J Exp Med* 195:781-788, 2002.
6. Besedovsky HO, Sorkin E, Keller M, Muller J. Changes in blood hormone levels during the immune response. *Proc Soc Exp Biol Med* 150:466-470, 1975.
7. Blalock JE. The syntax of immune-neuroendocrine communication. *Immunol Today* 15: 504-511, 1994.
8. Blalock JE. Harnessing a neural-immune circuit to control inflammation and shock. *J Exp Med* 195: F25-F28, 2002.
9. Bottasso O, Bay ML, Besedovsky H, del Rey A. The immuno-endocrine component in the pathogenesis of tuberculosis. *Scand J Immunol.* 66:166-75, 2007.
10. Corrêa-de-Santana E, Paez-Pereda M, Theodoropoulou M, Kenji Nihei O, Gruebler Y, Bozza M, Arzt E, Villa-Verde DM, Renner U, Stalla J, Stalla GK, Savino W. Hypothalamus-pituitary-adrenal axis during *Trypanosoma cruzi* acute infection in mice. *J Neuroimmunol.* 173:12-22, 2006.
11. Cutolo M, Straub RH, Bijlsma JW. Neuroendocrine immune interactions in synovitis. *Nat Clin Pract Rheumatol* 3:627-634, 2007
12. del Rey A, Besedovsky HO. Immune-neuroendocrine interactions: facts and hypothesis. *Endocrine Rev* 17: 64-102, 1996.
13. Ekström J, Mansson B, Tobin G. Vasoactive intestinal peptide evokes secretion of fluid and protein from rat salivary glands and the development of hypersensitivity. *Acta Physiol Scand* 119:169-75, 1983.
14. Furukawa H, Yamashita A, del Rey A, Besedovsky HO. C-Fos expression in the rat cerebral cortex during systemic GvH reaction. *NeuroImmunoModulation* 11:425-433, 2004.
15. Gomariz RP, Juarranz Y, Abad C, Arranz A, Leceta J, Martinez C. VIP-PACAP system in immunity: new insights for multitarget therapy. *Ann N Y Acad Sci* 1070:51-74, 2006.
16. Haas H, Schauenstein K. Neuroimmunomodulation via limbic structures-the neuroanatomy of psiconeuroimmunology. *Progr Neurobiol* 51:195-222, 1997.
17. Inui A. Cytokines and sickness behavior: implications from knockout animal models. *Trend Immunol* 22:469-473, 2001.
18. Jankowsky JL, Derric, B E, Patterson PH. Cytokine responses to LTP induction in the rat hippocampus: a comparison of in vitro and in vivo techniques. *Learn. Mem.* 7: 400-412, 2000.
19. Larocca L, Calafat M, Roca V, Franchi A, Perez Leiros C. VIP limits LPS-induced nitric oxide production through IL-10 in NOD mice macrophages. *Int Immunopharmacol* 7: 1343-1349, 2007.
20. Liberman AC, Refojo D, Druker J, Toscano M, Rein T, Holsboer F, Arzt E. The activated glucocorticoid receptor inhibits the transcription factor T-bet by direct protein-protein interaction. *FASEB J* 21:1177-1188, 2007.
21. Licinio J, Kling MA, Hauser P. Cytokines and brain function: relevance to interferon  $\alpha$  induced mood and cognitive changes. *Sem Oncol* 25: 30-38, 1998.
22. Lodde B. M, Mineshiba F, Wang J, Cotrim A. P, Afione S, Tak P. P, Baum B. J. Effect of human vasoactive intestinal peptide gene transfer in a murine model of Sjogren's syndrome *Ann Rheum Dis* 65: 195-200, 2006.

23. Marques-Deak A, Cizza G, Sternberg E. Brain-immune interactions and disease susceptibility. *Mol Psychiatry*. 2005;10(3):239-50.
24. Pacheco-López G, Niemi M, Kou W, Härting M, del Rey A, Besedovsky HO, Schedlowski M. Behavioural endocrine immune-conditioned response is induced by taste and superantigen pairing. *Neuroscience* 129: 555–562, 2004.
25. Pérez Leirós C, Sterin Borda L, Borda ES, Goin JC, Hosey MM. Desensitization and sequestration of human M2 muscarinic acetylcholine receptors by autoantibodies from patients with Chagas' disease. *J Biol Chem* 272:12989-12993, 1997.
26. Plata-Salaman CR. Cytokines and anorexia: a brief overview. *Sem Oncol* 25:64-72, 1998.
27. Rosignoli F, Torroba M, Juarranz Y, Garcia-Gomez M, Martinez C, Gomariz RP, Leceta J: VIP and tolerance induction in autoimmunity. *Ann NY Acad Sci* 1070: 525–530, 2006.
28. Said S, Mutt V. Polypeptide with broad biological activity: Isolation from small intestine. *Science* 169:1217-1218, 1970.
29. Schneider H, Pitossi F, Balschun D, Wagner A, del Rey A, Besedovsky HO. A neuromodulatory role of interleukin-1beta in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad.Sci. USA* 95: 7778–7783, 1998.
30. Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol* 6: 318–328, 2006.
31. Tracey K. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J Clin Invest* 117: 289-296, 2007.
32. Zheng H, Fletcher D, Kozac W. Resistance to fever induction by and impaired acute-phase response in IL-1b deficient mice. *Immunity* 3:9-19, 1995.



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 7, diciembre 2008

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)

## Una visión cualitativa de cómo analizar los factores que afectan a los desplazamientos químicos medidos por medio de la espectroscopía de RMN.<sup>a</sup>

R. H. Contreras\*, T. Llorente, G. Pagola, G. Bustamante, E. E. Pasqualini y J. I. Melo

Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Univ. de Buenos Aires, (C1428EHA)  
CABA

Email: [contrera@df.uba.ar](mailto:contrera@df.uba.ar)

Recibido: 27/11/08. Aceptado: 11/12/08

### Resumen

En este artículo se intenta mostrar cómo un conocimiento detallado del origen electrónico de los parámetros que se miden por medio de la espectroscopía de RMN puede ampliar en forma notable la utilidad de esa técnica para estudiar una amplia gama de problemas moleculares que pueden ser de mucho interés en diversas ramas de las ciencias. Los ejemplos que se muestran se refieren a los desplazamientos químicos, y se busca describirlos a través de nociones básicas evitando los aspectos formales que podrían cambiar el foco de la atención. Se resalta que, si bien los ejemplos dados se refieren a los desplazamientos químicos medidos en fase isótropa, la misma metodología se puede extender sin mayores dificultades a las constantes de acoplamiento indirecto de espín-espín. Algo análogo cabe decirse para cualquiera de esos parámetros medidos en fase anisótropa.

### Qualitative approach for analyzing factors influencing NMR chemical shifts

#### Abstract

If a detailed knowledge of factors affecting high resolution NMR parameters is achieved, then the scope of this spectroscopy to study different types of molecular problems that are of interest to various scientific branches can be enhanced notably. In this work few simple examples of how chemical shifts can be employed to deepen the understanding of subtle aspects of the electronic molecular structure are discussed. The applied approach is based on sound theoretical grounds, and it is described avoiding formal aspects to take into account that they could be too involved for a substantial part of the *Química Viva* readership. It is highlighted that, although the discussed examples refer to isotropic chemical shifts, this approach can easily be extended to anisotropic aspects of chemical shifts as well as to the analysis of indirect spin-spin coupling constants.

---

<sup>a</sup>. Este artículo se obtuvo como parte de los trabajos prácticos correspondientes al curso para graduados titulado "Física Molecular: Estructura electrónica molecular y los parámetros de RMN de alta resolución", que RHC dictara en el Departamento de Física de la FCEN-UBA durante el segundo cuatrimestre de 2008.

## Introducción.

El fenómeno de la Resonancia Magnética Nuclear, RMN,[1] se detectó por primera vez hace algo más de 60 años[2]. En una etapa muy temprana el análisis y la lectura de los espectros de RMN de soluciones químicas puras permitieron construir un código adecuado para la identificación de diversos grupos funcionales.[3] Desde entonces se ha mejorado esta técnica en forma prodigiosa y en la actualidad se la puede aplicar para estudiar una amplia gama de problemas moleculares. Se pueden citar entre otros, la deducción de la estructura de proteínas y nucleósidos [4,5,6,7], la deducción de vías de transferencia de carga dentro de una molécula[8], análisis de las interacciones tanto intra- como intermolecular para varios casos,[9] etc.

Junto con los progresos que se ven diariamente en la descripción de diversas vías metabólicas y de transducción de señales, existe un progreso equivalente en cuanto a elucidación de las estructuras moleculares y de sus propiedades observables. En Química Biológica, hoy en día, se estudia de manera indirecta la interacción intermolecular con sofisticadas técnicas afines. Es quizás una profundización en el conocimiento de la estructura electrónica molecular lo que aclare las posibles interacciones tanto dentro de una molécula como con las que la rodean. A partir de una base física para conocer la estructura electrónica de una molécula, los investigadores en disciplinas tales como la Química Biológica, la Biología Celular y otras afines, podrían desplegar su creatividad para resolver problemas en un nivel más profundo. Quizás este breve artículo muestre en forma somera cómo la RMN junto con ciertas ideas físicas pueden contribuir a la comprensión de detalles sutiles de la estructura electrónica molecular y pueda ser el punto de partida para estimular nuevos estudios que lleven a una comprensión complementaria y más amplia que la actual en los temas mencionados arriba.

En este artículo se muestran los lineamientos básicos de un procedimiento cualitativo que permite comprender cómo afectan ciertas interacciones tanto intra- como intermoleculares a los desplazamientos químicos. Ese método se basa en emplear expresiones rigurosas en forma aproximada que se obtienen a partir de la teoría del propagador de polarización.[10] Para mostrar su utilidad, potencialidad y sencillez se lo emplea para analizar el efecto de sustituyente sobre el apantallamiento magnético en unas pocas moléculas pequeñas. También se analiza la validez general de un concepto que suele expresarse frecuentemente tanto en algunos tratados como en artículos científicos que consiste en la afirmación “las interacciones de transferencia de carga sobre el desplazamiento químico presentan un efecto ya sea *apantallante* (*desapantallante*) del núcleo en cuestión cuando esas interacciones *arrian* (*retiran*) carga electrónica del entorno átomo”.<sup>b</sup> Para darle mayor claridad al método, esta descripción se complementa con algunos cálculos basados en la teoría de la funcional de la densidad, “DFT” (*Density Functional Theory*),[11,12] que indican cómo puede lograrse una idea cualitativa acerca de los efectos que producen ciertas interacciones intramoleculares sobre el desplazamiento químico. Para evitar que algunos de los lectores de Química Viva encuentren este tipo de análisis excesivamente matemático, se reducen al

---

<sup>b</sup> Esa afirmación es equivalente a decir que producen desplazamientos hacia mayor o menor campo magnético, o hacia menor o mayor frecuencia, respectivamente.

máximo sus aspectos formales y se mencionan referencias bibliográficas adecuadas en tal forma que los interesados puedan apreciar cabalmente la rigurosidad del mismo consultando fuentes originales. Además, por brevedad y facilidad de su comprensión, en este artículo ese análisis se restringe tan sólo a los núcleos de  $^{15}\text{N}$  y de  $^{17}\text{O}$  en unos pocos compuestos muy simples.

Es importante recordar unos pocos datos fundamentales antes de entrar en consideraciones más específicas:

Los únicos núcleos donde puede detectarse el fenómeno de la RMN son aquéllos que presentan un momento magnético nuclear, y por ende, un espín nuclear caracterizado por el número cuántico  $I$  distinto de cero.[13] No obstante, desde el punto de vista práctico no todos los núcleos magnéticos son igualmente útiles como sondas en estudios moleculares.[14] Para un mismo campo magnetostático externo (provisto por el espectrómetro) la sensibilidad de un isótopo para su observación por RMN depende fundamentalmente de su abundancia natural y de la magnitud de su factor magnetogirico. Actualmente la primera se puede mejorar enriqueciendo la muestra en un determinado isótopo, aunque en general se trata de un procedimiento muy costoso. La segunda se puede mejorar empleando espectrómetros con campos magnéticos más intensos. También existen métodos de transferencia de polarización que pueden mejorar la sensibilidad en distintos casos particulares.[15] Además de las cuestiones mencionadas cabe destacarse que no suele ser fácil detectar núcleos que tengan un momento cuadrupolar eléctrico distinto de cero pues tal circunstancia hace que sus estados de espín nuclear presenten un tiempo de relajación muy corto.<sup>c</sup> Los núcleos con una cantidad par tanto de protones como de neutrones (llamados “núcleos *par-par*”) tienen  $I = 0$ . Tal es el caso, por ejemplo, del isótopo 12 del carbono,  $^{12}\text{C}$ , o de los isótopos 16 y 18 del oxígeno,  $^{16}\text{O}$  y  $^{18}\text{O}$ . Dentro de sus respectivas especies los isótopos  $^{12}\text{C}$  y  $^{16}\text{O}$  son, por mucho, los de mayor abundancia natural.[15] A primera vista tal circunstancia puede parecer un inconveniente para estudiar compuestos orgánicos; sin embargo tal hecho lleva a que los espectros de dichos compuestos se vean notablemente simplificados y pueda, por tanto, extraerse una notable cantidad de información acerca de sus estructuras electrónicas moleculares. Otro aspecto sumamente importante en la aplicación práctica de esta espectroscopía lo constituye el hecho que los núcleos que tienen  $I > 1/2$ , presentan un momento cuadrupolar eléctrico,  $Q$ , distinto de cero, tal es el caso del  $^{17}\text{O}$  (*vide supra*).

A cada porción de la muestra se puede asignar una magnetización macroscópica que resulta de la suma de los efectos magnéticos de los electrones y de los núcleos. Ahora bien, la señal electrónica que se detecta para observar un espectro de RMN, proviene de los cambios que se producen en esa magnetización macroscópica como consecuencia de las transiciones inducidas por el campo (de radiofrecuencias) provisto por el espectrómetro entre los estados de espín nuclear. Se suele designar a esa componente de la magnetización macroscópica como la “magnetización macroscópica nuclear” en contraposición con la magnetización macroscópica que producen los espines electrónicos no apareados. Es de notar que la última, cuando está presente, es mucho más intensa que la primera, por lo que la

---

<sup>c</sup> Salvo si el gradiente del campo eléctrico creado por los electrones en la posición del núcleo es cero.

RMN no es práctica para el estudio de la estructuras electrónicas de radicales libres porque la presencia de espines no apareados genera una magnetización que perturba la observación proveniente de los núcleos. Por ese motivo, aunque a veces no se lo mencione en forma explícita, en general los compuestos cuyos espectros se estudian por RMN de alta resolución tienen todos los electrones apareados, es decir, el estado electrónico fundamental de la molécula tiene una configuración de “capa cerrada”.<sup>d</sup>

## **El estudio del tensor del apantallamiento magnético nuclear, S.**

### **Breves consideraciones generales sobre S.**

Una magnitud física ampliamente conocida y utilizada en diversos estudios relacionados con la RMN, es el apantallamiento magnético nuclear de un determinado átomo.[16] Se trata de una magnitud de carácter tensorial de segundo rango, S. Como este tipo de magnitudes físicas puede resultar poco conocida para algunos lectores de Química Viva, se considera oportuno incluir algunos comentarios breves sobre sus características. Una magnitud de ese tipo siempre se puede representar por una matriz de 3x3<sup>e</sup>. La suma de los elementos que pertenecen a la diagonal principal se conoce como su “traza”, la que es invariante ante rotaciones. Un tensor de segundo rango siempre se puede descomponer en una parte simétrica y otra antisimétrica. En el caso del apantallamiento magnético nuclear la primera parte es la que define al desplazamiento químico; la segunda, contribuye al tiempo de relajación de los estados nucleares que definen el espectro de RMN. Por tal razón en este artículo sólo se tiene en cuenta la parte simétrica del tensor S aunque no se lo mencione en forma explícita.<sup>f</sup> Si las mediciones se realizan en fase isotrópica, entonces tan sólo es dable observar el promedio de su traza y constituye la constante de apantallamiento magnético nuclear,  $\sigma$ . Esa cantidad está estrechamente relacionada con el desplazamiento químico, que corresponde al apantallamiento relativo respecto de el de un compuesto de referencia,[17] es decir,

$$\text{Desplazamiento químico} \quad \delta = \sigma_{\text{Ref}} - \sigma \quad (1)$$

que, al igual que el tensor S, suele expresarse en “partes por millón”, ppm?

El tensor S es una propiedad asociada a cada núcleo perteneciente a una molécula y al diagonalizarlo, se determinan tres direcciones mutuamente perpendiculares entre sí, conocidas como las “direcciones principales” de ese tensor y los tres elementos que lo componen se conocen como sus

<sup>d</sup> Lo que también suele expresarse diciendo que el estado electrónico molecular fundamental corresponde a una configuración singulete.

<sup>e</sup> El razonamiento inverso dado por la expresión: “Toda matriz de 3x3 representa a un dado tensor” no es válido..

<sup>f</sup> Todo tensor simétrico con elementos reales, es diagonalizable y sus autovalores son reales.

“valores principales”.<sup>g,h</sup> Debe quedar claro que las orientaciones de los ejes principales de cada tensor dependen de los elementos de simetría local del átomo en cuestión y no de los elementos de simetría de la molécula. Por otra parte, se ha calculado que, para un núcleo particular, las direcciones principales se afectan poco ante el cambio de un sustituyente.[18] Esto quiere decir que, para un análisis cualitativo de los factores que afectan a  $S$ , en ambos compuestos (sustituido y sin sustituir) se pueden considerar que los ejes principales difieren al máximo en unos pocos grados.<sup>i</sup>

El tensor de apantallamiento magnético nuclear consta de una parte diamagnética, positiva y por consiguiente apantallante, y de una parte paramagnética, negativa desapantallante,<sup>j</sup>  $S = S^d + S^p$ . Es común ver que se acepta en la bibliografía[19,14,20,21] que el efecto de sustituyente sólo afecta al tensor paramagnético. Si bien es cierto que el mayor efecto lo sufre la parte paramagnética, esa afirmación no siempre es del todo correcta.

### La parte paramagnética del tensor $S$ expresado en términos del propagador de polarización

En esta subsección se presenta en forma breve cuáles son los fundamentos del método de análisis cualitativo que permite comprender algunos de los factores que afectan a la parte paramagnética del tensor de apantallamiento magnético nuclear,  $S^p$ , debido a la presencia de un sustituyente. La constante de apantallamiento magnético nuclear del núcleo  $M$  se puede expresar (al igual que el tensor) como suma de su parte diamagnética y de su parte paramagnética:

$$S_M = S_M^d + S_M^p \quad (2)$$

Cuando se emplea el formalismo del propagador de polarización y se usa la aproximación RPA (Random Phase Approximation)[10], la parte paramagnética de la ec.(2) se puede escribir de acuerdo con la ecuación (3) [22]

$$S_M^p = K \sum_{a=1}^3 \sum_{ia,jb} \left\{ U_{ia,a}^p \left( {}^1A + {}^1B \right)_{ia,jb}^{-1} U_{jb,Ma}^p + U_{ia,Ma}^p \left( {}^1A + {}^1B \right)_{ia,jb}^{-1} U_{jb,a}^p \right\} \quad (3)$$

<sup>g</sup> Las direcciones principales también se conocen como “eigenvectors” o “autovectores”, mientras que los valores principales también se conocen como “eigenvalues” o “autovalores”

<sup>h</sup> ¿Cómo se puede describir en forma sencilla la diagonalización de un tensor simétrico de segundo rango? Basta pensar en una magnitud vectorial como la velocidad, la fuerza, etc. Ese vector se puede expresar mediante tres componentes en un sistema de ejes coordenados. Si se quisiera “diagonalizar” un vector, bastaría con tomar la dirección del vector para definir uno de esos ejes, entonces basta con saber su módulo para describirlo. Podría decirse “el vector se ha diagonalizado”. El módulo es para un vector lo que la traza es para un tensor de segundo rango.

<sup>i</sup> No obstante, debería tenerse mucha prudencia antes de generalizar esta afirmación.

<sup>j</sup> Esta expresión debe tomarse con cuidado cuando el átomo cuyo apantallamiento nuclear se estudia es de H.



donde K es una constante que no se describe en forma detallada pues la ec. (3) sólo se usa en este artículo como base para una descripción cualitativa, la cual es independiente de esa constante.

A continuación se presenta una descripción sintética de los distintos términos que aparecen en la ec. (3). Debe notarse que dentro de la llave se presentan los términos diagonales del tensor paramagnético caracterizados por  $\alpha\alpha$  que corresponden a las coordenadas cartesianas XX, YY, ZZ. El primer símbolo de suma (desde  $\alpha = 1$  hasta  $\alpha = 3$ ) corresponde a la traza del tensor de apantallamiento paramagnético. La segunda suma se realiza sobre duplas de orbitales moleculares, OM, conformadas por uno ocupado y uno vacante  $i,a$  y  $j,b$ , respectivamente. Esas duplas corresponden a lo que en la teoría de perturbaciones se denominan “excitaciones virtuales”.

$({}^1A + {}^1B)_{ia,jb}^{-1}$  son los elementos de la matriz correspondiente a la inversa de la matriz del propagador de polarización singulete,  ${}^1W_{ia,jb}$ . Las matrices singuletes  ${}^1A$  y  ${}^1B$  se pueden escribir como:

$${}^1A_{ia,jb} = (\mathbf{e}_a - \mathbf{e}_i) \mathbf{d}_{ab} \mathbf{d}_{ij} + 2\langle aj|ib \rangle - \langle aj|bi \rangle \quad (4)$$

$${}^1B_{ia,jb} = \langle ab|ji \rangle - 2\langle ab|ij \rangle \quad (5)$$

donde

$$\langle aj|ib \rangle = \int d^3r_1 d^3r_2 a^*(1) j^*(2) \frac{1}{r_{12}} b(1) i(2) \text{ son integrales moleculares bielectrónicas.}$$

Por otra parte,

$$U_{ia,a}^p = \langle i | \left( \vec{R} \times \vec{\nabla} \right)_a | a \rangle \quad (6)$$

$$U_{jb,Ma}^p = \langle i | \left( \frac{\vec{R}_M \times \vec{\nabla}}{R_M^3} \right)_a | a \rangle \quad (7)$$

se conocen como los “perturbadores paramagnéticos”, es decir, los elementos de matriz del hamiltoniano paramagnético entre un OM ocupado,  $i$ , y uno vacante,  $a$ . Debe notarse que  $\vec{R}$  es el radio vector posición desde el centro de coordenadas hasta el electrón sobre cuyas coordenadas se realiza la integral. En cambio,  $\vec{R}_M$  es el radio vector de ese electrón pero medido desde la posición del núcleo M.

Es importante resaltar que la ecuación (3) es invariante ante transformaciones unitarias aplicadas a los OM. Por consiguiente, se puede suponer que en las ecuaciones (3) a (7) los OM están

localizados, OML, donde se emplearon procesos de localización independientes tanto para los ocupados como para los vacantes. Esta observación sugiere introducir algunas aproximaciones algo drásticas pero correctas.<sup>k</sup> Debe recordarse que las expresiones (3) a (7) tan sólo se emplearán en forma cualitativa para tomar una visión conceptual acerca de cómo analizar algunos factores que pueden alterar a la parte paramagnética del tensor de apantallamiento magnético nuclear. Recuérdese que uno de los objetivos que se tiene en mente es comprender cómo actúa el efecto de sustituyente sobre los desplazamientos químicos  $\delta(^{15}\text{N})$  y  $\delta(^{17}\text{O})$ <sup>l</sup> en compuestos muy sencillos, especialmente en lo que respecta a las interacciones que implican transferencia de carga. (Los interesados en conocer aspectos de estos tipos de desplazamiento químico pueden consultar, p. ej., las referencias [23,24]) En este punto debe recordarse que en la actualidad el método más comúnmente aplicado para el estudio de interacciones de transferencia de carga, es el de "orbitales naturales de enlace", NBO, que introdujeron hace ya más de dos décadas Weinhold y sus colaboradores.[25] Por lo tanto, surge en forma directa suponer lo siguiente: los OMLs en que se piensa que están escritas las ecuaciones (3) a (7), frente a interacciones de transferencia de carga se comportan cualitativamente como los NBOs de Weinhold *et al.* Más abajo se discute en forma más rigurosa la validez de esta suposición.

Antes de analizar con más detalle las ecs. (3) a (7) deben hacerse algunas observaciones respecto a la primera de ellas: los efectos de sustituyente (o los efectos de cualquier interacción) pueden manifestarse a través de modificaciones ya sea en el propagador de polarización singulete o en los perturbadores. No obstante, debe recalarse que algunas interacciones pueden afectar ambos tipos de términos.

Se definen como los términos "diagonales del propagador" aquéllos en los que se cumple que  $i = j$  y  $a = b$ , es decir, a aquéllos en que las dos "transiciones virtuales" son las mismas.<sup>m</sup> Debe resaltarse que los términos "diagonales" del propagador son más importantes que los no diagonales, pero para tener una participación importante en el tensor paramagnético, los respectivos "perturbadores" que intervienen en el mismo término, no deben ser "muy pequeños".<sup>n</sup> Luego, es importante tener una idea de cuándo un "perturbador" lleva a una contribución significativa. Antes de discutir este punto con cierto detalle, debe mencionarse que las matrices  ${}^1\mathbf{A}$  y  ${}^1\mathbf{B}$  aparecen sumadas y que sólo los términos diagonales de esa suma contienen la diferencia de las energías orbitales  $\Delta = \varepsilon_a - \varepsilon_i$  que, de ahora en adelante, se denomina "gap vacante-ocupado", o simplemente "gap". Para esos términos se pueden despreciar las integrales bielectrónicas en comparación con ese "gap". Luego, en forma cualitativa se puede decir que los elementos diagonales de  $\mathbf{W}$  son, en forma aproximada, inversamente proporcionales al "gap". Aceptando las aproximaciones mencionadas arriba acerca del comportamiento de los OMLs, es

<sup>k</sup> Se destaca que los OML que produce el método NBO permite asociar a cada OML con funciones químicas tales como enlaces, pares no enlazantes, antienlaces y orbitales de "core" (capas internas),

<sup>l</sup> Si bien en este trabajo sólo se mencionan los corrimientos químicos de esos dos núcleos, estas ideas se pueden aplicar a cualquier otro que sea activo en RMN.

<sup>m</sup> Se recomienda no confundir los "términos diagonales" de  ${}^1\mathbf{W}$  con los elementos diagonales del tensor de apantallamiento magnético nuclear.

<sup>n</sup> Sin lugar a dudas, "muy pequeños" es una expresión muy difusa. Aquí se la usa en este sentido: cuanto mayor es sea el perturbador, más cuidado hay que tener al analizar el término de  ${}^1\mathbf{W}$ .

fácil comprender cómo afectan las interacciones de transferencia de carga a los términos diagonales del propagador. Efectivamente, toda interacción que transfiere carga del orbital ocupado,  $i$  lo “empuja” hacia energías más profundas, con lo cual el “gap” se hace más grande y el término diagonal de  $\mathbf{W}$  se hace más pequeño. Algo similar cabe decirse acerca de interacciones que arriman carga al OML vacante  $a$ : una interacción de transferencia de carga lo “empuja hacia arriba”, es decir, también produce una disminución del término diagonal de  $\mathbf{W}$ .<sup>[26]</sup> Nótese que esto equivale a decir que tanto las interacciones que arriman o que alejan carga de las vecindades del núcleo cuyo tensor de apantallamiento magnético se está estudiando, pueden llevar a un efecto ya sea de apantallado o de desapantallado, dependiendo del caso particular que se trate, es decir, de cómo esas interacciones afectan a dicho “gap”.

Con respecto a los “perturbadores” de la ec. (6) pueden formularse las siguientes apreciaciones: debe recordarse que la expresión dentro del paréntesis corresponde al “operador rotación de 90°” alrededor del eje  $\alpha$ . Por consiguiente, ese perturbador corresponde a la integral de solapamiento entre un OML ocupado rotado 90° alrededor del eje  $\alpha$  y un OML vacante. Es decir, en muchas circunstancias es sumamente sencillo apreciar cuándo un perturbador es suficientemente grande como para que el término diagonal respectivo de la ec. (3) tenga un valor significativo.

Con respecto al perturbador de la ec. (7) debe observarse que, si en el mismo se toma como centro de coordenadas el núcleo M, entonces en el numerador aparece el mismo operador rotación que el considerado en la ecuación (6) y caben comentarios análogos acerca de cuándo ese perturbador tiene un valor significativo.<sup>o</sup> Por otra parte, en el denominador aparece el módulo al cubo de la distancia electrón-núcleo. Por consiguiente, si los electrones del OML sufren una interacción repulsiva (ejemplo: compresión estérica) entonces en promedio los electrones están más cerca del núcleo, con lo que el denominador del término paramagnético se hace más pequeño, y el término paramagnético se agranda, produciendo un desapantallado en el núcleo en cuestión. En un trabajo anterior se ha demostrado experimentalmente ese efecto que se produce por la proximidad de un grupo metilo sobre un átomo de flúor;<sup>[27]</sup> también se conocen efectos similares para el oxígeno.<sup>[28]</sup>

### **Algunas consideraciones acerca del cálculo teórico del tensor de apantallamiento magnético nuclear.**

Tal como surge de la ec.(2), el tensor  $S$  puede descomponerse en una parte diamagnética y una paramagnética. Por otra parte se conocen muy bien los problemas asociados a la elección de la medida electromagnética (“gauge”) para describir tanto el campo magnetostático del espectrómetro como el de los núcleos magnéticos presentes en la molécula. Una de las formas frecuentes de superar este problema es emplear en el cálculo de  $\chi$  una base de orbitales GIAO (\* DXJH -Included Atomic Orbitals).<sup>[29]</sup> Un costo importante que debe pagarse por esta ventaja, es que con ese método no se

---

<sup>o</sup> Debe observarse que al tomar el origen de coordenadas en el núcleo, se está menospreciando el problema de la dependencia de los resultados con la medida electromagnética que se emplea para describir tanto el campo magnético del espectrómetro como del producido por los núcleos magnéticos. No obstante, no debe olvidarse que este análisis es solamente cualitativo.



## **Pasantías en el exterior: impresiones del afuera y el adentro**

**Dra. Cybele García**

Recibido: 2/12/08. Aceptado: 15/12/08

Los programas de intercambio con el exterior para investigadores o docentes, son una posibilidad extraordinaria en términos de formación y adquisición de excelencia académica. Este tipo de estadías permite crecer profesionalmente, iniciar e incluso consolidar vínculos con grupos de investigación de renombradas universidades o institutos, donde los argentinos son siempre muy bien considerados y recibidos por la trayectoria científica que poseen.

Las colaboraciones tienen como objetivo unificar esfuerzos y conocimientos, con una consecuencia enriquecedora para ambas partes. En general, en las colaboraciones con países en desarrollo se busca compartir conocimientos sobre técnicas ya establecidas en ambos laboratorios para perfeccionarlas o poner a punto nuevos protocolos de investigación utilizando esa misma tecnología. En cambio, en las colaboraciones con países desarrollados se busca una actualización de la tecnología que aún no es de alcance local pero que se necesitará implementar en un futuro cercano para seguir avanzando. Al mismo tiempo se busca poder contribuir con el grupo externo con nuestra experticia en el tema en estudio, y buen desenvolvimiento ante situaciones adversas, cosa que los argentinos saben hacer muy bien debido a la escasez económica que se vive en las universidades, en términos de recursos, equipamiento, y salarios.

Realizar tareas de investigación en los países centrales resulta mucho más fácil y placentero, debido a la posibilidad de trabajar sin tener esa presión diaria de hacer todo escatimando al máximo los recursos, práctica que a veces resulta siendo más onerosa debido al tiempo que destinamos a realizar los ensayos, una y otra vez, por la variabilidad que surge al trabajar con reactivos preparados en forma personal. Asimismo, en esos lugares donde poco o casi nada falta y donde todo o casi todo funciona, el investigador/a puede permitirse pensar exclusivamente sólo en el trabajo, olvidando otros problemas con los que se lidia en los países en desarrollo, como arreglos de aparatos o compra de material importado mediante largos trámites.

A todas estas complicaciones descritas se le suma la escasez de reconocimiento por parte de la sociedad y muchas veces por parte de los propios pares a causa de la poca relevancia que las autoridades le otorgan, en realidad, a la ciencia y educación. Esta es una barrera que desaparece en países desarrollados, donde los pasantes son merecidamente reconocidos, y logran conseguir más logros con la misma dedicación y esfuerzo. La situación cambia para aquellos que luego toman la decisión de quedarse en ese otro país donde encontraron mejores posibilidades de desarrollo y después de un tiempo las reglas del juego se ponen más exigentes para los residentes extranjeros con duras restricciones a los inmigrantes y alta competencia con los locales. Sin embargo, para aquellos que tienen la convicción de llegar lejos, el lugar físico de trabajo no es en general una limitación.

Por otro lado, muchos otros se enfrentan con el desafío de volver al país de origen luego de un período prolongado afuera. No hay que olvidar que existe la difícil transición tanto al irse como al

regresar. Al regresar hay que adaptarse nuevamente a los problemas locales, con la dificultad de tener que encontrar la posición laboral merecida y acondicionar el lugar de trabajo para volver a empezar en un nuevo entorno. Sin embargo, el regreso está acompañado con el ansiado encuentro con familiares y amigos que ayudan notablemente a que ocurra de manera más natural.

Cabe destacar además algo muy importante: los programas que financian estadías externas otorgan un conjunto de beneficios que exceden la formación académica. Entre ellas, la posibilidad de conocer e interactuar con una cultura distinta a la propia, la posibilidad de acceder a gente sobresaliente de esos otros países y compartir con ellos su modo de vida. La diversidad cultural resulta siempre motivadora y desafiante, crea incentivos y muestra valores que trascienden una disciplina académica específica y contribuyen a reducir la distancia entre los países, convirtiéndonos muchas veces en embajadores *ad-honorem*, donde todos mostramos costumbres, tradiciones y abrimos perspectivas distintas de vida para que otros también conozcan otras regiones del mundo sin tener que viajar.

Definitivamente la estadía en el exterior otorga la posibilidad de educarse académica y humanamente. Permite vivir la experiencia de contactarse con profesionales de todo el mundo, gente de primerísimo nivel científico con la cual compartir charlas, ideas y proyectos laborales, algunos de los cuales se proyectarán luego en la Argentina, y además permite establecer profundas amistades con gente que parece distinta por fuera, pero que no lo es por dentro, con los cuales uno mantiene luego contacto a través de toda la tecnología existente hoy en día, por e-mail, chat o comunicación telefónica vía internet.

Esta oportunidad laboral con valor agregado brinda el privilegio de entender otras culturas y de repensar la propia, abriendo posibilidades ante una inevitable globalización y a sus consecuencias sociales y económicas. Es sin duda una experiencia con una mezcla de emociones: momentos difíciles, desafiantes, exigentes, y a la vez divertidos, únicos e inolvidables. Pero por sobre todas las cosas, una estadía en el exterior exitosa, puede ser sin duda, el punto inicial de una serie de sucesos que encaminen una carrera profesional generando una confianza a la cual se recurre en los momentos difíciles.



ISSN 1666-7948

[www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar)

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 7, diciembre 2008

[quimicaviva@qb.fcen.uba.ar](mailto:quimicaviva@qb.fcen.uba.ar)