



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 8 · Nº 1, Año 2005 · ISSN 1315-1746 · Depósito Legal pp 199202DF899 Suscrita a Lilacs, Asereme, Bireme

Virus de la Inmunodeficiencia Humana VIH-2

VIH / SIDA - Diagnóstico en la mujer
HIV/AIDS - Diagnosis in woman

La transcriptasa reversa del VIH: Estudios estructurales y cinéticos

Variabilidad genética del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH):
Importancia en el desarrollo de vacunas
(Genetic variability of human immunodeficiency virus, HIV-1:
Its importance in vaccine development)

Beta-lactamasas de espectro expandido aisladas en muestras de sangre y líquido cefalorraquídeo en pacientes del Hospital Universitario de Caracas. Año 2004.

La Occidentalizada Ciencia Moderna en
Contraposición de la Tradicional Ciencia Antigua
(The Modern Westernized Science in
Contraposition to the Ancient Traditional Science)
A Ciência Moderna de Occidental no Contraste
à Ciência Tradicional Antiga

De la nada absoluta al origen de la vida.
Parte I: De las moléculas esenciales





EDITORIAL

Nuevamente estamos presentes con nuestra publicación científica luego de un receso involuntario.

En estos momentos nos ha sido muy difícil seguir manteniendo informados a todos nuestros colegas, la situación económica del País también nos ha afectado. Sin embargo consideramos un deber y un compromiso para con ustedes seguir manteniendo la periodicidad de la revista "Acta Científica de Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas".

Por otra parte queremos invitarle a las XV Jornadas Científicas de la SVBE la cual se realizarán del 02 al 05 de julio de 2005 en la Ciudad de Barquisimeto Edo. Lara. Desde ya están todos cordialmente invitados. Creemos que en el marco de este evento científico podrán encontrar todos los temas relacionados con su especialidad. Le recordamos que tenemos los premios "Franca Billi" al mejor trabajo presentado por estudiantes o profesionales del Bioanálisis egresados después de 2003. Premio de la SVBE al mejor trabajo inédito realizado por profesionales del Bioanálisis y el premio al mejor trabajo libre presentado durante el Evento.

Esperamos poder seguir recibiendo su aporte científico, le recordamos que nuestra revista esta indexada y es necesario el reconocimiento a su editora la Dra. Ana Monzón de Orozco, ya que sabemos lo difícil que ha sido la aparición de este, el primer número, volumen 8 del año 2005.

Axel Rodolfo Santiago
Presidente
Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

VIH / SIDA - DIAGNÓSTICO EN LA MUJER

HIV/AIDS - DIAGNOSIS IN WOMAN

Dr. José A. López Mora

Servicio de Obstetricia, Hospital Universitario de Caracas. Escuela de Medicina "Luis Razetti" Universidad Central de Venezuela. Los Chaguaramos, Caracas. Venezuela.

RESUMEN

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se ha convertido en una pandemia que afecta a millones de personas en todo el mundo. La distribución de los pacientes es de 70% en África, 21% en Asia y 9% en Latinoamérica (África subsahariana, sudeste asiático y Latinoamérica). Se estima que para el año 2000 había 14 millones de mujeres infectadas. De los niños infectados, el 90% lo fueron a través de sus madres seropositivas y el 60% de las infecciones ocurren en personas de 15-24 años de edad. En Venezuela, el 3,03% de las afectadas tiene entre 15 y 19 años de edad. Hay mayor riesgo de contagio de VIH de hombre a mujer, posiblemente porque el semen depositado en la vagina permanece más tiempo en contacto que la secreción vaginal en la uretra del hombre, por la mayor superficie de la mucosa vaginal y por mayor concentración de partículas virales en el semen comparado con el fluido vaginal. Ciertas enfermedades de transmisión sexual facilitan la infección por VIH, como las que cursan con ulceraciones genitales como el chancroide, la sífilis y el herpes genital. De forma indirecta, los métodos anticonceptivos evitan la transmisión del virus de la madre al feto. In vitro se ha demostrado que el nanoxinol-9 y el cloruro de benzalconio inactivan el virus y que el preservativo de latex intacto impide su paso; este último, si no es usado correctamente no evita el contagio. Los hombres vasectomizados pueden contagiar el VIH porque a pesar de no contener espermatozoides, el virus procede de otros líquidos seminales. Los lubricantes como aceites vegetales o vaselina deterioran el latex y este se rompe, deben usarse lubricantes con base acuosa porque no afectan el látex.

PALABRAS CLAVE: SIDA, INFECCIÓN EN MUJERES, PRESERVATIVOS, NANOXINOL-9, BENZALCONIO, ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL.

ABSTRACT

Acquired immunodeficiency syndrome is a pandemic affecting millions of people worldwide. Patients distribution is 70% Africa, 21% Asia and 9% Latinamerica. It is estimated that during year 2000 there were 14 million infected women. From infected children, 90% acquired AIDS through their serum positive mothers. Sixty percent of infections occur in persons 15-24 years old. In Venezuela 3,03% of affected women are 15-19 years old. Risk of HIV transmission is higher from men to women, possibly because semen deposited in the vaginal tract remains longer in contact than vaginal secretion in men's urethra; because vaginal surface is wider than men's urethra and because there is a higher concentration of viral particles in seminal fluid compared to vaginal secretion. Some sexually transmitted diseases facilitate AIDS contagious, such as chancroid, syphilis and genital herpes virus infection. Indirectly, contraceptive methods interfere AIDS transmission from infected mothers to fetus and lactating babies. In vitro, it has been demonstrated that nanoxinol-9 and benzalconium chloride inactivate the virus, also, an intact latex condom block its passage. Vasectomized men can transmit AIDS because spite spermatozoids absence other seminal fluids contain the virus. It is important to know that vegetables oils and vaseline deteriorate latex allowing its rupture, only aqueous lubricants do not affect condom latex membrane.

KEYWORDS: AIDS, WOMEN INFECTION, CONDOMS, NANOXINOL-9, BENZALCONIUM, SEXUALY TRANSMITTED DISEASES.

EPIDEMIOLOGÍA

En apenas poco más de 10 años el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) se ha convertido en una pandemia que afecta a millones de personas en todo el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que para 1994 se produjeron unos 4,5 millones de casos de SIDA, previendo que dicha cifra se triplicaría para el año 2000. Es sabido que el número de infectados por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) es mucho mayor.

Estimaciones de la OMS consideran que desde el comienzo de la pandemia (1981) hasta finales de 1994 su progresión era alarmante, calculándose que cada día aparecen 16.000 nuevos infectados en el mundo. Para 1997 se calculó en unos 30.000.000, de los cuales el 90% vive en países en desarrollo (9% en Latinoamérica, 21% en Asia y 70% en África). Hasta ahora las regiones más afectadas han sido el África Sub Sahariana, el Sudeste Asiático y Latinoamérica, lo cual indica que dicha epidemia se ha convertido en un verdadero problema de salud pública. América Latina y el Caribe presentan una prevalencia en adultos del 1.4%, tan solo superada por el África Sub Sahariana, por lo cual se ha afirmado que "debemos aprender del comportamiento epidemiológico de esta enfermedad para que no suceda lo mismo que le ocurrió al Sudeste Asiático" (Dr. José Esparza, ONUSIDA).

En el decenio de 1980, la epidemia de SIDA apenas alcanzó a la mujer; para 1994 rebaso los 7.000.000, y para el año 2000 se habrán infectado más de 14.000.000, de las cuales habrán muerto unos 4.000.000.

Otro aspecto a considerar, y que está adquiriendo notable importancia, es el referido al número de niños afectados por la enfermedad. Según los últimos informes¹, en 1996, 400.000 menores de 15 años contrajeron la enfermedad, de los cuales el 90% fueron infectados a través de sus madres seropositivas, durante el embarazo, en el trabajo de parto, o durante la lactancia.

En relación con la edad, aspecto de gran importancia, se calcula que en muchos países el 60% de todas las infecciones recientes se registran en jóvenes de 15 a 24 años, siendo la relación hombre: mujer de 2:1. Las relaciones heterosexuales son la vía de transmisión más frecuente en la mujer joven, lo cual conlleva el aumento del número de hijos que nacen infectados.

En Venezuela, al tratar de analizar la situación del VIH/SIDA, nos encontramos con serias dificultades. El sub-registro, a pesar de ser una enfermedad de notificación obligatoria según Resolución del MSAS del 13 de marzo de 1983 y el notable atraso de la información (3 años), además de otras razones como el estigma social que significa, la ignorancia entre la población y en el mismo equipo de salud, ha llevado a un rechazo marcado del enfermo hasta situaciones extremas de negarle la atención requerida, y peor aún a realizar su debido registro. Para el año 1994, los casos de SIDA en el país representaron el 3,9% de los reportados en América Latina, y el 33% de la sub-región andina. No obstante, la tasa de incidencia en hombres para 1994 se sitúa en el promedio para la región, más baja que Brasil, pero más elevada que las de Colombia y Perú. Respecto de la tasa en mujeres, para 1994 se estimó en 11,3 por millón de habitantes, mucho menor que el promedio en la región. Desgraciadamente se ha venido observando una disminución muy marcada en la relación hombre: mujer. Así, para 1986 era de 18:1; y para 1994 fue de 8:1.

Entre 1982 y 1997 fueron reportados 6.916 casos de SIDA en Venezuela, pero desde entonces la propagación ha sido muy acelerada, aumentando el número 35 veces entre 1984 y 1990, y duplicado éste entre 1990 y 1994². Con las reservas debidas a lo anotado anteriormente, se estima que la población infectada en Venezuela oscila entre 50 mil y 100 mil personas

Como se citó anteriormente, una de las características más resaltantes del problema a escala mundial ha sido el aumento del número de mujeres afectadas, de lo cual no ha escapado Venezuela, donde fueron reportados 694 casos de mujeres con SIDA, el 10% del total, hasta septiembre de 1997.

Al igual que en el resto del mundo, en la población femenina de Venezuela la incidencia de SIDA se presenta más tempranamente, de tal forma que el 3,03% de las afectadas tienen entre 15 y 19 años, mientras que en el sexo masculino la proporción en el mismo grupo etario ha sido del 1,7%.

Entre los factores de riesgo encontrados en mujeres VIH/SIDA, se citan:

- Pareja VIH/SIDA, en el 47%
- Pareja heterosexual sin factores de riesgo, 38%
- Pareja bisexual, 9%
- Pareja con consumo de drogas IV, 6%



En un estudio realizado en el Hospital "JM. de los Ríos" en Caracas, entre enero de 1984 y abril de 1997, de los 71 pacientes con SIDA encontrados, el 76% de ellos fueron infectados por transmisión vertical, evidenciándose un progresivo aumento a partir de 1991, con incremento de la incidencia y prevalencia de casos de SIDA.

Dato de singular importancia lo constituye el hecho comprobado de que la iniciación de la actividad sexual en Venezuela se está haciendo a temprana edad⁵, apreciándose que el 25,4% de los jóvenes lo hicieron entre los 10 y 14 años y el 67,7% entre los 15 y 19. Igualmente preocupante, es el hecho establecido que sólo el 39% de los jóvenes utiliza métodos anticonceptivos y el 38% de sujetos menores de 24 años son padres.

La incidencia de Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS) en nuestra población adolescente es alta, siendo para 1995 el 20% del total en adolescentes entre 15 y 19 años⁶, lo cual pone de manifiesto el alto riesgo al que se exponen los adolescentes de contraer las ETS y la infección por VIH.

Dadas las características epidemiológicas de la enfermedad anteriormente anotadas y ante las respuestas institucionales de la sociedad, con las dificultades para el acceso a los medicamentos requeridos y la ausencia hasta ahora de vacunas efectivas, en forma definitiva se imponen hasta el momento las acciones de prevención primaria, basadas en intervenciones relacionadas con el comportamiento de las personas en sus áreas de conducta, actitudes y creencias.

De lo anteriormente expuesto se deduce que es de vital importancia el conocimiento de los patrones de comportamiento en los diferentes grupos de población en lo relativo a su sexualidad, las ETS y al VIH/SIDA, para poder diseñar programas educativos y preventivos que minimicen el riesgo de la infección.

Como hemos visto, en ausencia de un tratamiento eficaz para detener la infección por VIH, los programas de educación que explican las formas de transmisión y las modalidades de reducir o eliminar la exposición al VIH se constituyen en el medio más eficaz de prevenir su transmisión. Estos programas deben dirigirse a toda la población, especialmente a los sectores de mayor riesgo de contraer la infección. Así mismo, los programas de información y educación deberán tener en cuenta que la mayoría de las formas de transmisión tienen

relación con aspectos muy profundos de la condición humana, como son la sexualidad y el placer, y que muchos de los considerados de riesgo no reciben aprobación social.

Formas de Transmisión del VIH. Comportamientos de Riesgo

Estudios epidemiológicos realizados a escala mundial han mostrado solamente tres maneras posibles de transmisión del VIH:

Relaciones sexuales, de hombre a mujer, mujer a hombre, hombre a hombre, mujer a mujer: Se entiende como relación sexual la penetración del pene en vagina o ano, y el contacto oro-genital. Existen comportamientos sexuales de riesgo, entre los cuales podríamos enumerar:

1. Relaciones con personas infectadas.
 2. Relaciones con personas en alto riesgo de contraer la infección, como sucede con aquellas que usan o comparten agujas o inyectadoras contaminadas; que padecen una ETS; que practican sexo anal con otras parejas; que intercambian sexo por dinero; que tienen múltiples parejas sexuales, o aquellas a quienes no se les conoce sus comportamientos sexuales. Respecto al mayor riesgo de transmisión por el coito anal, se debe en parte a que el tejido que recubre exteriormente al recto es relativamente delicado y susceptible de romperse, además de la diferencia del pH del recto en relación con el de la vagina, lo cual puede ocasionar disminución de la resistencia a la penetración del virus.
- **Exposición a sangre, hemoderivados u órganos o tejidos contaminados:** Antes de conocerse la posibilidad de detectar productos contaminados, las transfusiones sanguíneas y de hemoderivados constituyeron una importante fuente de transmisión del VIH. En algunas regiones muchas mujeres fueron contaminadas al hemotransfundirse como consecuencia de complicaciones de partos. Infecciones debidas a trasplantes de órganos y tejidos, así como por el uso de material médico-quirúrgico, o por algunos procedimientos potencialmente infectantes como los tatuajes, escarificaciones y la circuncisión, son también posibles.
 - **Por transmisión perinatal, es decir de la madre infectada al feto o al lactante:** Embarazadas infectadas con VIH pueden transmitir la infección en un 30% de los casos

a sus hijos, porcentaje que se incrementa en proporción directa a la evidencia de la sintomatología que presente por el SIDA. Generalmente la transmisión se realiza in útero, antes del parto, pero también es factible durante éste y hasta durante la lactancia, aún cuando no es lo frecuente.

El VIH no se transmite por contacto de objetos tocados por personas infectadas, ni por contactos fortuitos con esas personas, como estrechar sus manos, abrazar o besar casualmente, ni por medio de picaduras de insectos.

Hay Mayor Riesgo de Contaminación por VIH de Hombre a Mujer que de Mujer a Hombre

Hasta el presente no hay una explicación total para ello. Al respecto se aduce que es debido a una serie de razones, como son:

- El semen depositado en la vagina de la mujer permanece más tiempo en contacto en su superficie después del coito, al contrario del tiempo que transcurren en contacto las secreciones vaginales infectadas con la uretra masculina.
- La superficie de contacto de la vagina con el semen infectado es mucho mayor que la de la uretra masculina con las secreciones vaginales infectadas.
- La concentración del virus es mucho mayor en el semen que en las secreciones vaginales.

Cómo Evita la Mujer su Infección por VIH

Debido a que la mayor parte de las personas infectadas no presentan signos ni síntomas característicos de la enfermedad, es difícil su distinción de las personas sanas, a menos que se hiciesen pruebas de detección de laboratorio. En la mujer existen comportamientos que las colocan en alto riesgo de infectarse, los cuales, al ser evitados, previenen la transmisión de la infección. Entre ellos podríamos enunciar:

- Relaciones sexuales con hombres infectados.
- Utilización de agujas compartidas con personas contaminadas con VIH.
- Relaciones sexuales con hombres que tengan comportamientos de alto riesgo.

La transmisión sexual del VIH se evita cuando la persona infectada se abstiene de tener sexo con personas no infectadas.

La mujer puede en ciertas circunstancias, y hasta cierto grado disminuir el riesgo de la infección limitando el número de parejas sexuales, seleccionándolas de muy bajo riesgo y practicando el llamado "sexo seguro", entendido éste como aquél en el cual no se produce intercambio de secreciones potencialmente infectantes entre la pareja. Referente al uso de otros métodos de protección nos referiremos más adelante.

Respecto a la posibilidad de infección por sangre, hemoderivados y transplantes, pueden evitarse mediante el correcto examen del tejido a recibir.

La transmisión asociada con agujas y jeringas contaminadas se puede disminuir evitando compartir estos equipos no esterilizados, pero la mejor solución del problema es omitir el consumo de drogas.

Hasta el presente no existen pruebas de que el VIH se transmite por vías respiratoria o gastrointestinal, ni por contactos ocasionales de persona a persona. Igualmente no hay pruebas de su transmisión por alimentos, insectos, agua, baños, piscinas, uso común de objetos como teléfonos, cubiertos, platos o utensilios de cocina, al igual que de lencería ni prendas de vestir.

Aunque las combinaciones eficaces de medicamentos antivirales permitirán mejorar y alargar la vida de muchas personas infectadas por el VIH, jamás el tratamiento medicamentoso podrá reemplazar su prevención⁷.

Datos confiables indican que la prevención del VIH da resultado, y a una fracción del costo del tratamiento medicamentoso. La promoción del uso de condones ha dado lugar a menores tasas de infección. Alentar el cambio de políticas hace posible la prevención de la infección por el VIH. Políticas que respalden, en lugar de obstaculizar esfuerzos de prevención, es uno de los medios que puede emplear un gobierno para proteger a sus ciudadanos. A escala mundial, cuando los dirigentes de un pueblo hablan con franqueza acerca de la prevención de la enfermedad, se fomentan respuestas favorables ante la epidemia. El fortalecimiento de organizaciones locales de prevención de SIDA es la mejor manera de acercarse a comunidades de riesgo y mantener conductas preventivas.



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas
VIH / SIDA -
Diagnóstico en la mujer

Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS). Relación entre SIDA y ETS.

Aspectos Psico-Sociales

Siendo la infección por VIH una enfermedad cuya transmisión más común, aún cuando no la única, es la vía sexual, hay que considerarla fundamentalmente como una ETS, aunque frecuentemente no se le toma como tal.

En cuanto a las medidas preventivas del VIH/SIDA, son en la práctica comunes a las de las ETS, razón por la cual hay gran oportunidad para los trabajadores de la salud de poder hacer profilaxis de ambas mediante la utilización de un método común.

No sucede lo mismo en cuanto a la utilización de algunos métodos anticonceptivos, los cuales, aunque muy eficaces, como sería el caso de los anovulatorios hormonales, las esterilizaciones quirúrgicas y los dispositivos intrauterinos (DIU), no desempeñan papel alguno en la prevención de ETS y VIH/SIDA.

Estudios clínicos han sugerido que ciertas ETS facilitan la contaminación sexual con el VIH, constituyendo factores de alto riesgo. Las ETS más involucradas son aquellas que cursan con ulceraciones genitales, como el chancroide, la sífilis y el herpes genital, habiéndose también considerado como posible factor de riesgo a la infección por Chlamydia.

Respecto a la frecuencia de las ETS a escala mundial, en realidad se desconocen cifras exactas, debido a que no son de notificación obligatoria, ni siquiera aquellas consideradas como de mayor gravedad, como la blenorragia, la sífilis, el chancroide, herpes genital ni las infecciones por Chlamydia. En la actualidad se considera que constituyen las infecciones más comunes entre los adolescentes sexualmente activos⁸.

La OMS informa que todos los años, 1 de cada 20 adolescentes contrae ETS y el 25% de las personas con SIDA tienen entre 20 y 30 años, es decir que fueron infectados durante su adolescencia.

En Venezuela, para 1992, de las ETS clásicas, 30% de los casos detectados fue entre personas de 15 a 19 años de edad.

La relación entre las ETS y la posibilidad de transmisión del VIH hasta el presente no ha sido del todo establecida, habiendo programas propuestos por la

OMS tendientes a establecerla, lo cual significaría un notable avance en su control. Existen sólidas razones tanto teóricas como clínicas que sugieren que algunas ETS constituyen un factor de riesgo en la transmisión del VIH.

Desde el punto de vista psico-social los infectados por el VIH, además del problema de su enfermedad como tal, presentan la estigmatización por su relación con factores morales, éticos y religiosos, lo cual conlleva a situaciones tan graves y peligrosas como la discriminación social, familiar, y en oportunidades hasta desde el punto de vista laboral y de atención médica. La existencia del SIDA, la modalidades de infección y la falta de información adecuada ha creado en la población general, incluso entre el mismo personal de salud, una serie de reacciones irracionales como el pánico y el rechazo, y junto a ello, falsos mitos y creencias con respecto al VIH¹¹.

El apoyo psicosocial es una modalidad de atención participativa para el demandante de la prueba Elisa, el seropositivo y su entorno familiar social, a través del cual se da el sostén necesario, se ayuda a conocer, comprender y manejar la situación que deriva de la enfermedad.

Basándose en lo anterior, la atención psico-social, así como el asesoramiento, son servicios requeridos por las personas infectadas por el VIH en lo cual las Organizaciones No Gubernamentales (ONG) desempeñan importante función en lo relativo a actividades de educación y promoción de salud entre ellos.

Métodos Anticonceptivos y Prevención de Transmisión del VIH

En las mujeres sexualmente activas, los métodos anticonceptivos pueden evitar la transmisión del VIH. Dado que la tasa de transmisión de éste de la madre al feto y al lactante se sucede entre un 20 a 45%, cualquier método anticonceptivo contribuye a evitarlo.

Toda persona enferma por el VIH, o con riesgo de infección, debe tener a disposición un método anticonceptivo seguro como tal y que a su vez le proteja, o a su pareja, del posible contagio con el virus. La utilización de algunos métodos de barrera, aún cuando no son los más eficaces anticonceptivos, bien utilizados, puede cumplir ambos objetivos.

In vitro se ha demostrado que la adición de ciertos compuestos como el nanoxinol-9 y el cloruro de benzaclonio pueden inactivar el virus, y que un preservativo intacto de látex impide su paso, siempre y cuando sea correctamente utilizado.

Hasta el presente es sabido que el uso del condón ha resultado la mejor estrategia de prevención de la transmisión del VIH por las relaciones sexuales. Si no es utilizado de manera correcta durante cada relación sexual, no la previene de manera eficaz. Como no es sabido con precisión la forma y el momento exacto de la transmisión del virus en el tracto genital, no son recomendables otros métodos de barrera como el diafragma, el capuchón cervical y las esponjas vaginales. Igualmente el coitus interruptus, o método de la retirada, no es un método eficiente para evitar el contagio con el VIH, dado que el contacto del pene con las secreciones vaginales puede ocasionar contagio de mujer a hombre, lo mismo que el líquido pre-eyaculatorio, del hombre a la mujer, aún cuando la eyaculación fuese externa.

También los hombres vasectomizados pueden contagiar la enfermedad, a pesar de que su semen no contenga espermatozoides, debido a que el virus se encuentra presente en otros líquidos seminales.

Como ha sido descrito anteriormente, la presencia de otra ETS en cualquier miembro de la pareja, incrementa el riesgo de transmisión del virus, razón por la cual debería evitarse el contacto sexual con la misma, o al menos, buscar alternativas de satisfacción sexual diferentes, como la masturbación mutua.

En la actualidad, la mayoría de los condones son fabricados de látex o de membranas naturales, pero sólo los primeros han demostrado su eficacia. No debe usarse lubricantes tipo aceites vegetales ni minerales, especialmente aquellos productos derivados del petróleo, como vaselina, los cuales deterioran el látex, pudiendo llegar éste a romperse. En caso de usar lubricantes, lo cual es recomendable para evitar su rotura y además la posibilidad de irritación local por el roce, éste debe ser de base acuosa y hecho para este propósito. Igualmente es útil su correcta manipulación; al abrirse el paquete que lo contiene, no deberá usarse tijeras, uñas ni dientes, por el peligro de romperlo. No se recomienda el uso de preservativos elaborados con membranas naturales. Respecto a su almacenamiento, debe hacerse en lugar seco y de temperatura adecuada, al abrigo de luz del sol, pudiéndose llevar en el bolsillo o en

la cartera sólo durante pocas horas. Para el correcto uso del preservativo han de seguirse ciertas recomendaciones¹², como:

- Utilizar uno nuevo en cada acto sexual, sin importar las características de éste.
- Rechazar el prepucio hacia atrás, dejando totalmente descubierto todo el glande, en casos de hombres no circuncisos.
- Si se usa espermaticida, deberá aplicarse una pequeña porción en la parte interna de la punta del condón.
- Colocar el preservativo luego de que el pene esté erecto, pero antes de cualquier contacto con la pareja.
- No deberá colocarse de manera tal que se presione la punta del glande. En caso de que no tenga un pequeño reservorio en la punta, deberá dejarse de 1 a 2 cm. libres, a fin de recolectar allí el semen.
- Una vez colocado el condón en la punta del glande, deberá irse desenrollando hacia la base del pene, pudiéndose aplicar externamente una pequeña porción de espermaticida, la cual a su vez servirá como lubricante.
- Si se sintiera que el condón se rompe durante la relación, inmediatamente debe sacarse y reemplazarse por uno nuevo, con otra cantidad del espermaticida.
- Luego de la eyaculación, pero antes de que el pene pierda su erección, sosteniendo el borde del preservativo, a nivel de la base del pene, éste debe sacarse cuidadosamente.
- Una vez afuera el pene, para retirar el condón, éste debe halarse hacia la punta, teniendo cuidado de no derramar el semen.
- Finalmente, debe envolverse el preservativo usado y tirarlo en un sitio donde otras personas no puedan manipularlo. Lavar posteriormente las manos con suficiente agua y jabón.

Estudios de laboratorio han demostrado que el látex ofrece una barrera eficaz contra el virus del Herpes simplex, el citomegalovirus, la blenorragia, sífilis, chancroide, virus de la hepatitis B, clamidia y el VIH.

Además del preservativo o condón masculino, el capuchón cervical y la esponja impregnada con nanoxinol 9 han sido utilizados con relativo éxito. Actualmente se cuenta con el llamado "condón femenino", especie de cubierta vaginal de poliuretano termoplástico, suave, holgada, cuyo extremo se ajusta a un aro flexible, mientras que otro aro, separado, removible, sirve para introducir y



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas
VIH / SIDA -
Diagnóstico en la mujer

retener el dispositivo. Una de las dificultades para su mayor utilización, hasta ahora, lo constituye su mayor costo, en comparación con el preservativo masculino.

Se encuentran en etapa de desarrollo nuevos métodos de aplicación de espermaticidas en forma de anillos vaginales. También se desarrolla en la actualidad un tipo de condón de un plástico más resistente que el látex, difícil de deteriorar y compatible con lubricantes aceitosos, los cuales soportarían períodos más prolongados de almacenamiento, y su tasa de rotura sería menor que la de los actuales de látex.

Función del Preservativo en la Infección por VIH

Impedir la exposición al virus es el objetivo primordial de los métodos que intentan evitar el contagio por el VIH. Es así como la abstinencia sexual y las relaciones entre una pareja mutuamente fiel y no infectada son los únicos procedimientos que aseguran la ausencia de exposición. Fuera de estas condiciones, el correcto uso del preservativo es, hasta el presente, la mejor medida de prevención, aún cuando no garantiza el 100% de seguridad.

El VIH se encuentra en el semen, las secreciones vaginales y las secreciones masculinas preeyaculadas, de lo cual deriva que el preservativo debe usarse desde el comienzo de la relación, antes de la primera penetración o contacto, hasta después de la eyaculación. Aparte del uso incorrecto, la posibilidad de ruptura del condón durante la relación sexual constituye la principal causa de falla del método. Se recomienda instruir a la mujer en forma detallada sobre el uso del preservativo, lo cual contribuirá a su seguridad.

Participación del Hombre en la Prevención de VIH/SIDA de la Mujer

Actualmente los hombres se interesan en la salud reproductiva más de lo que la gente cree. Algunos programas de planificación familiar se han interesado en la participación de los hombres, al parecer debido también a la creciente preocupación en todo el mundo respecto a la rápida propagación del VIH/SIDA. Según Mary Nell Wegner, directora de Men As Partners Initiative, "la importancia del VIH/SIDA ha abierto el debate relativo al comportamiento sexual". Los programas de prevención del VIH se han centrado en hombres y mujeres,

dándoles casi la misma atención, a diferencia de los programas de planificación familiar, dirigidos principalmente a las mujeres, por lo cual hoy los hombres desempeñan papeles importantes en el apoyo de las necesidades de salud de la reproducción de la pareja.

La participación del hombre en la prevención de las ETS, incluido el VIH, es crucial. Este debe participar activamente para que una pareja use condones de látex en forma correcta y sistemática y debe permanecer fiel, si ambos buscan protección mediante una relación mutuamente monógama.

Un mayor énfasis en la participación de hombres en lo relativo a la salud de la reproducción podría ayudar a dirigir la atención hacia la necesidad de hacer más por la mujer.

A pesar de que muchos hombres dicen que no les gusta usar condones, el uso de éstos está aumentando considerablemente por ser una estrategia principal en la prevención del SIDA¹⁴. Su venta ha aumentado mediante el uso de campañas de mercadeo social, con cifras anuales de decenas de millones en lugares donde hasta hace un decenio apenas eran usados. La toma de conciencia del SIDA es mucho mayor ahora, y las campañas de comunicación han demostrado que los condones son una solución eficaz. Su conocimiento, actitud y la conciencia del riesgo son cruciales para fomentar su uso. La dinámica entre compañeros sexuales desempeña un papel importante. Las actitudes y opiniones de padres, compañeros y líderes configuran normas comunitarias acerca del uso de preservativos.

Desde el inicio de la epidemia del SIDA, los hombres casados han demostrado mayor interés en el uso de preservativos tanto con fines anticonceptivos como de prevención de ETS.

Acciones sobre los Adolescentes en la Prevención del VIH/SIDA

En todo el mundo hombres y mujeres jóvenes se ven afectados por un alto porcentaje de embarazos no planificados, ETS, incluida infección por VIH, y otros problemas graves. Aproximadamente el 50% de los casos infectados por VIH en el mundo ocurre en menores de 25 años, según la OMS. Dos de cada tres ETS ocurren en menores de 24 años en los países industrializados, y esta proporción debe ser mayor en los países en desarrollo¹⁵. Más del 10% de todos los nacimientos ocurren en mujeres

entre 15 y 19 años de edad, según la Population Reference Bureau.

Muchos jóvenes empiezan a tener relaciones sexuales sin haber recibido información acerca de la salud de la reproducción¹⁶. Esa falta de información puede hacerles correr el riesgo de embarazos no planificados, abortos y de ETS. La educación respecto a la salud sexual puede ser un medio importante en la prevención de esos problemas.

Diversos estudios han demostrado que la educación sexual puede ayudar a retrasar el inicio de la actividad sexual en los adolescentes, y entre los que ya la ejerzan puede fomentar el correcto uso de métodos anticonceptivos y de protección de la transmisión de ETS. Igualmente se ha establecido que los temores de que dichos programas fomentan la actividad sexual entre adolescentes son infundados.

Entre los jóvenes es común la información errónea acerca de anticoncepción y de prevención de ETS. La carencia de información, o las informaciones erróneas al respecto pueden ser causa del bajo uso de métodos preventivos en algunos lugares. Según la OMS, los jóvenes requieren dos tipos de mensajes en materia de educación sexual: uno para los que no han iniciado su actividad sexual y otro para aquellos que ya la han practicado.

Al establecer un programa de educación sexual debe considerarse: ¿Qué debe tratarse en el programa de estudios? ¿Quién debe participar en su programación y puesta en práctica? ¿Dónde ofrecer dichos programas?

El Sexuality Information and Education Council (SIECUS) actualizó su guía para dichos programas, según la cual la educación sexual debe iniciarse en los primeros años de la escuela primaria, entre los 5 y 8 años de edad de los niños, y continuarse hasta la adolescencia, cuando tengan entre 15 y 18 años. Los cursos deben ser dictados por personal capacitado, y la participación de la comunidad es esencial en su elaboración y puesta en práctica. Igualmente se ha considerado de importancia la participación de los jóvenes en el diseño y práctica de los cursos.

La televisión, la radio, la prensa escrita y otros medios de difusión de información pueden convertirse en poderosos instrumentos para dar a conocer las consecuencias de la actividad sexual¹⁷.

REFERENCIAS

1. Comunicado de prensa conjunto de la Junta de la Conferencia y ONUSIDA, Ginebra, 5 de noviembre de 1997. Difundido por correo electrónico.
2. Oficina de Prevención y Lucha contra el SIDA (OPL-SIDA) MSAS. 1994.
3. El VIH/SIDA en Venezuela. Análisis de situación y recomendaciones. Resumen. ONUSIDA, 1998.
4. Carvajal A. Factores de riesgo en 124 mujeres VIH/SIDA entre 1985 y 1997. Hospital Universitario de Caracas, 1997.
5. La Juventud Venezolana. Informe general. Ministerio de la Familia, 1995.
6. Colmenares MM, Di Brienza M. Venezuela: La Salud Sexual y Reproductiva de las y los Adolescentes. Informe de Pals a instancias del FNUAP, octubre 1997.
7. Lamptey P, Cates W. Un poco de prevención salva millones de vidas. Network en español. Family Health International 1997 (17):4-7.
8. Sileo E. Enfermedades de transmisión sexual en la adolescencia. Rev Obstet Ginecol Venez 1996; 56 (Supl): 53-59.
9. Estado mundial de la Infancia. UNICEF 1995.
10. Departamento de Enfermedades de Transmisión Sexual. MSAS, 1994.
11. Torres A. Manual de Apoyo Psico-Social. Serie sobre el SIDA 3. MSAS, Caracas, Venezuela, 1992.
12. Pedrique de Aulacio M. ¿Qué es el SIDA? Un problema de todos. 1997. Vicerrectorado Académico, Facultad de Farmacia, UCV
13. Robey B, Drennan M. La participación en la salud de la reproducción. Network en español. Family Health International 1998; 18) 12-17.
14. Finger W. Aumenta el uso de condones. Network en español. Family Health International 1998; (18): 23-28.
15. Cates W, Pheeters M. Adolescents and sexually transmitted diseases, current risks and future consequences. Presentado en el work-shop on Adolescent Sexuality and Reproductive Health in Developing Countries: Trends and Innovations, National Research Council, marzo 25, 1997. Washington, EU.
16. Barnett B. La educación retrasa el inicio de la vida sexual. Network en español. Family Health International 1997; (17): 14-20.
17. Keller S. Los medios de información contribuyen a mejor salud. Network en español. Family Health International 1997; (17):29-31.



LA TRANSCRIPTASA REVERSA DEL VIH: ESTUDIOS ESTRUCTURALES Y CINÉTICOS

Lic. Alberto Quintero

Laboratorio de Hepatitis y Sida, Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel

La transcriptasa reversa (TR) es una polimerasa de ADN, compuesta por dos subunidades, 66 y 51 KDa. Sintetiza ADN usando un ácido nucleico complementario como templado. Esta enzima posee tres actividades distintas: una polimerasa de ADN dependiente de ARN que sintetiza la cadena negativa del ADN proviral, una actividad polimerasa de ADN dependiente de ADN que cataliza la construcción de la hebra positiva y una actividad de RNasa H. La TR del VIH utiliza un ARN de transferencia (ARNt) específico para llevar a cabo la fabricación del ADN complementario, lo cual induce un cambio de conformación que afecta las actividades de la polimerasa. Diversos investigadores han encontrado que la afinidad del sustrato por la TR del VIH es significativamente alta; la Kd para un dNTP de la TR viral es 4nM, una de las más bajas encontradas para las polimerasas de ADN y posee a su vez valores de procesividad y selectividad de gran magnitud. Distintas evidencias remarcen el hecho de que la TR sufre un cambio conformacional cuando se encuentra acomplejada de la forma E-ADN-dNTP, y que esta acción puede ser inhibida por el apareamiento de un nucleótido incorrecto. La enzima debe acomodar los duplex generados de cada reacción y debido a esto la TR podría no ser capaz de restringir la geometría del apareamiento, como sucede para el resto de las polimerasas, originando la aparición de los diferentes mutantes del VIH. Los inhibidores de la transcriptasa reversa del VIH se pueden agrupar en tres categorías: análogos de nucleósidos, no nucleósidos y oligonucleótidos. Los inhibidores análogos de nucleósidos más utilizados clínicamente son: Lamivudina, Zert, Retrovir, Vides, AZT o Zidoduvina y Viramune. Los no nucleósidos ya empleados en terapias son: Viramune y Rescriptor. Por todas sus características, la TR del VIH se encuentra catalogada como una de las enzimas de mayor funcionalidad y complejidad que se haya estudiado.

PALABRAS CLAVES: ACTIVIDAD POLIMERASA, ARNt, AFINIDAD, SELECTIVIDAD, PROCESIVIDAD, CONFORMACIÓN, INHIBIDORES.

Hace apenas 20 años, se anunció que se había aislado un retrovirus el cual era el agente etiológico responsable de causar el Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida., lo que se conoce ahora como SIDA. 5 años más tarde Arthur Korberg en su publicación en el Journal of Biological Chemistry, declaró que poco se sabía acerca de la transcriptasa reversa de este virus, así como también de su modo de integración en el cromosoma del hospedador¹.

Como si se tratara de una respuesta a esta declaración, una gran cantidad de trabajos han sido publicados a lo largo de todos estos años, los cuales involucran tanto el mecanismo de acción de la enzima, como posibles blancos potenciales de acción para inhibidores de la misma.

La transcriptasa reversa (TR) es una polimerasa, sintetiza ADN usando un ácido nucleico complementario como templado. Debido a que utiliza un ARN como molde y sintetiza una hebra de ADN complementaria, es clasificada como una ADN polimerasa dependiente de ARN. Durante el ciclo de vida del virus, esta enzima copia el ARN retroviral en ADN de doble cadena, el cual luego se integra en el ADN nuclear de la célula transformada².

Las transcriptasas reversas son bien conocidas por su rol en el ciclo de vida de los retrovirus, sin embargo éstas también se encuentran en otros organismos. Existen TRs que participan en la replicación de transposones en eucariotas tales como, levaduras³, *Drosophila*⁴ y células humanas⁵. Esta enzima se ha convertido en un gran blanco en numerosos estudios que tienen como finalidad

detener la proliferación del VIH (virus de inmunodeficiencia humana) ya que: esta proteína es crucial para la replicación del virus, sus propiedades son muy diferentes a las de las polimerasas celulares y la enzima es activa en el citoplasma celular.

La RT del VIH posee tres actividades distintas: una polimerasa de ADN dependiente de ARN que sintetiza la cadena negativa del ADN proviral, una actividad polimerasa de ADN dependiente de ADN que cataliza la construcción de la hebra positiva y una actividad de RNasa H en donde se degrada una porción del híbrido ARN-ADN generando el cebador de ARN usado en la síntesis de la hebra positiva de ADN⁶.

Estructura de la TR

La transcriptasa reversa del VIH es una heterodímero de 66 y 51 kDa (usualmente denominados p66 y p51, respectivamente). El polipéptido p51 es derivado de la maduración proteolítica de un precursor p66 por la proteasa viral. Asumiendo que el corte se ejecute a nivel de homodímeros, un delicado mecanismo debe estar involucrado en la maduración del precursor p66/p66 para dar lugar a la polimerasa p66/p51, biológicamente activa.

Aunque ambas porciones poseen los dominios de polimerasa y RNasa H, sólo la subunidad p66 es la encargada de efectuar todos los pasos catalíticos⁷. El rol preciso de la subunidad p 51 está por determinarse, diversos investigadores la han denominado como una subunidad "silente". Sin embargo, la dimerización de estas porciones es necesaria para que exista la actividad enzimática⁸; de esto se ha planteado que esta acción resulte un blanco atractivo para intervenciones quimioterapéuticas.

El dominio de la polimerasa de la subunidad p66 posee una especie de canal o espacio análogo al fragmento de Klenow de la polimerasa I de ADN de *E. coli*. Esta hendidura corresponde al sitio en donde interaccionan el cebador y el templado. La subunidad p51, posee una estructura bastante diferente en esta parte, de tal forma que no permite distinguir la hendidura que se percibe en la subunidad p66. Un hecho curioso de las estructuras de ambas polimerasas es que aunque ambas posean una diferencia bastante notable en sus secuencias nucleotídicas, los dos tipos de moléculas presentan este tipo de estructura de hendidura de forma muy similar. Diversos investigadores han postulado que este tipo de conformación es necesario en todas las polimerasas de ADN, así como la presencia

de un cebador, o iones metálicos divalentes, por ejemplo.

En general también se ha observado que estas estructuras pueden funcionar como enclaves que permitan sujetar el cebador y el templado en una geometría precisa de tal modo que la polimerización ocurra de modo eficiente⁹. El mismo grupo que enunció lo anterior, propuso además que las dos alfa hélices que se encuentran en esta hendidura, podrían jugar o tener un rol de rieles por donde el templado y el cebador se desplazarían durante la síntesis progresiva de ADN.

Transcriptasa reversa y la proteína de la cápside

La transcriptasa retroviral es codificada por el marco abierto de lectura (ORF, open reading frame, inglés) *pol*, localizado aguas abajo del que codifica para la proteína de la cápside, llamada *gag*. La expresión de *pol* necesita la síntesis de una poliproteína *gag-pol*, que es luego madurada en la proteína de la cápside, la proteasa, la transcriptasa reversa y la integrasa. La maduración es catalizada por una proteasa viral¹⁰.

Los retrovirus utilizan dos estrategias para producir una proteína de fusión *gag-pol*: pueden realizar una lectura a través del codón de terminación en el caso del MoMLV o bien se ejecuta un cambio en el marco de lectura en la dirección -1, como sucede en el VIH¹¹.

La poliproteína *gag-pol* es producida en apenas un 5 % comparada con la producción de *gag* sola. La síntesis de dicha proteína de fusión involucra dos ventajas: en primer lugar, la proteína *gag* es sintetizada en mucho más cantidad que las proteínas enzimáticas (por 5 moléculas de transcriptasa se producen 100 de la cápside). En segundo lugar la TR puede ser dirigida a las cápsides virales ya que *gag* codifica para una proteína que enlaza al ARN genómico en el virión. Eso quiere decir que la especificidad de enlazamiento de la TR dentro del virión se ve aumentada en gran medida por la existencia de esta fusión, es por ello que en los retrovirus la transcriptasa reversa depende fuertemente de las proteínas de la cápside en la traducción y su replicación¹².

ARN de transferencia como cebador

Como todas las polimerasas de ADN, la TR necesita un cebador o primer para iniciar la síntesis del ADN complementario (ADNc) y en este caso, ésta



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas
La transcriptasa
reversa del VIH:
estudios estructurales
y cinéticos

utiliza un ARN de transferencia (ARNt) específico para llevar a cabo dicha actividad¹³. Esta ventaja evolutiva sorprendió a muchos investigadores ya que el VIH no tiene que fabricar este cebador sino que lo toma de su hospedador. El ARNt forma un complejo junto con una proteína de la nucleocápside llamada NCp15 codificada por la región GAG y una región del genoma del VIH denominada PBS (sitio de unión del cebador, siglas en inglés). Diversos investigadores han demostrado que la unión de la NCp15 no es necesaria para el reconocimiento de la enzima por el complejo, sin embargo, la presencia de la NCp15 mejora en gran medida los niveles de replicación del VIH¹⁴.

Estudios de interacción entre el ARNt y la TR demostraron que la enzima sufre un cambio de conformación inducido por el cebador y que este cambio afecta tanto a la actividad polimerasa de ADN como a la actividad RNasa H de la proteína retroviral p17. Un hecho interesante en este paso de la replicación viral es que la TR primero se une al ARNt y luego reconoce al templado¹⁵, lo que no sucede en otros tipos de polimerasas de ADN. Además de esto, la TR del VIH debe seleccionar su cebador específico del total de la población de moléculas de ARNts del hospedador, posiblemente haciendo de éste el paso limitante de la reacción. La polimerasa utiliza como primer natural al ARN de transferencia que porta el aminoácido lisina.

Actividad RNasa H

Los dominios de actividades polimerasa y de RNasa H residen dentro de la misma molécula proteica. Por diversos reportes se asume ahora que estas dos actividades están finamente acopladas¹⁶. Estudios de modelaje a través de la estructura de cristales de TR predicen que 20 pares de bases del híbrido ADN-ARN pueden encontrarse acomodadas entre los sitios activos de la polimerasa y la RNasa H¹⁷. La estructura tridimensional de la TR del VIH reveló que existe una separación de sólo 18 nucleótidos entre estos dos sitios⁹. Esta separación es sin lugar a dudas crucial para la replicación del retrovirus, contribuyendo en gran medida a su efectividad.

El cebador de la síntesis de la hebra positiva de ADN se enlaza a los 18 nucleótidos de la región PBS cerca del extremo 5' del ARN del VIH. Durante esta síntesis este cebador es removido por la actividad RNasa H de la enzima.

Más interesante aún, es que esta distancia (18 pares de bases), debe mantenerse entre estos dos

sitios para que se dé el mecanismo de iniciación de la síntesis de la segunda hebra de ADN¹⁸. Aunque para la síntesis de la hebra negativa de ADN proviral el ARN genómico es degradado en varios fragmentos, solo uno de ellos, de 19 nucleótidos de longitud es el que se usa para por la transcriptasa reversa. Esta longitud pudiera estar relacionada con la distancia mencionada anteriormente.

Enlazamiento del ADN y procesividad

El primer tipo de experimento en realizarse con cualquier polimerasa para el estudio de su sitio activo es la determinación de la K_d o constante de disociación, que nos da una idea de la tendencia que la enzima posee para incorporar a un simple nucleótido. Esta actividad provee una medida directa de la concentración del complejo enzima-ADN (E-ADN) como una función de la concentración de ADN, ya que la reacción de incorporación es mucho más rápida que la disociación del complejo E-ADN.

Estos experimentos demuestran que el enlazamiento del ADN a la enzima es altamente específico; en este caso, la K_d es igual a la concentración de la enzima por la concentración del sustrato dividido entre la concentración del complejo enzima sustrato, visto de otro modo:

$$K_d = [E] [S] / [ES]$$

En donde [E] es la concentración de la enzima, [S] la del sustrato y [ES] la del complejo enzima sustrato. Por este tipo de relación sabremos entonces que mientras más pequeña numéricamente sea la K_d , mayor será la afinidad del sustrato por la enzima.

Comparando las distintas K_d de diferentes tipos de polimerasas de ADN, diversos investigadores han encontrado que la afinidad del sustrato por la TR del VIH es significativamente alta. La ADN polimerasa II de E.coli posee una K_d de aproximadamente 20 nM, la del bacteriófago T4 se sitúa entre 14 y 15 nM y la del VIH en 4nM¹⁹, esto aumenta la eficiencia replicativa del VIH, sumando efectividad en la producción de nuevos viriones.

La procesividad se define como el número de bases polimerizadas por encuentros de la enzima con el ADN templado y el cebador y puede ser calculada simplemente dividiendo la tasa de polimerización (1/seg) entre la tasa de disociación del complejo enzima sustrato (1/seg).

$$\text{Procesividad} = K_{\text{pol}} / K_{\text{off}}$$

En donde K_{pol} es la tasa de polimerización y K_{off} la tasa de disociación del complejo E-ADN (o ARN)²⁰.

Bajo estas condiciones del ensayo, se ha podido determinar la procesividad de varias enzimas ADN polimerasas. Por ejemplo, la procesividad de la polimerasa del fago T4 posee un valor de 800 pares de bases y para el caso del VIH, se pueden obtener valores de hasta 1200 pares de bases, estos a la vez representan valores que están por encima de los datos arrojados en los ensayos de la ADN polimerasa II²¹.

Afinidad por los nucleótidos: la K_d para los complejos E-ADN-dNTP productivos

El primer paso en la incorporación de un nucleótido es el enlazamiento de un dNTP (desoxinucleótido trifosfato) al complejo E-ADN. Las medidas del efecto del incremento de concentración de un dNTP sobre la tasa de incorporación en un simple experimento de recambio (o como se conoce normalmente, turnover), definen los parámetros cinéticos que gobiernan a la polimerización¹⁹. La reacción involucra un equilibrio rápido seguido de un paso limitante, de tal forma que la dependencia de la concentración define a la K_d para la formación del complejo E-ADN-dNTP²².

La constante de disociación en el enlazamiento de un dNTP correcto para el fago T7 es de 20 μM y se encuentra entre las menores si se compara con organismos eucariotas, por ejemplo, la ADN polimerasa humana. Los resultados obtenidos para la polimerasa del VIH son aún menores, la K_d para un dNTP posee un promedio de 5 μM , o sea que un dNTP en el medio celular posee una afinidad mayor por la TR del VIH que por las polimerasas celulares.

La selectividad en el paso de reconocimiento inicial se define por la relación entre la K_d para una base incorrecta y la K_d para un dNTP correcto.

$$\text{Selectividad} =$$

$$K_d \text{ dNTP incorrecto} / K_d \text{ dNTP correcto.}$$

Para la polimerasa del fago T7, la selectividad es tan grande que la K_d incorrecta es extremadamente difícil de medir (K_d correcta es de 20 μM y la K_d incorrecta es de aproximadamente 8 mM).

Valores de selectividad similares son encontrados para la TR del VIH, estos se encuentran comprendidos entre 200 y 400, aunque la K_d para un nucleótido correcto es mucho más baja que en el caso anterior.

Cambios conformacionales de la transcriptasa reversa

Las evidencias disponibles indican que la tasa máxima de incorporación de los nucleótidos está limitada por un cambio conformacional en el complejo, justo antes de realizar la catálisis (21). El complejo inicial de enlazamiento sirve para traer al dNTP dentro del sitio catalítico de la polimerasa que involucra un apareamiento con una base del templado. El segundo paso sirve como chequeo adicional en la cual solo la base correcta puede inducir una isomerización rápida del complejo ternario guiando entonces a la catálisis de la reacción de transferencia del fosforil nucleósido. Este cambio conformacional es sólo inhibido por apareamientos de nucleótidos incorrectos, lo cual da una idea de la selectividad de la reacción.

Experimentos que prueban el efecto del enlazamiento de dNTPs sobre la tasa de disociación del ADN, han mostrado suficiente evidencia de un cambio que va desde un estado de E-ADN-dNTP hacia otro de complejo "activado", o E'-ADN-dNTP. Para el caso de la TR del VIH se pudo notar que la tasa de disociación del ADN del complejo activado era 10 veces más pequeña que para el complejo E-ADN-dNTP²⁰.

Además de esto, el mismo cambio conformacional efectuado por la enzima encierra al cebador, el templado y el dNTP para disminuir la tasa de liberación del dNTP desde el templado, esta idea dió origen a la definición de "estado cerrado" del complejo activado E'-ADN-dNTP.

La selectividad total es una función de la reacción de enlazamiento en dos pasos. El significativo incremento de la selectividad de la polimerasa del fago T7 comparada con la TR del VIH se da en el segundo paso. Para el VIH, este paso contribuye solo en un factor de 80 para la fidelidad de la reacción; el segundo paso es 80 veces más lento en un apareamiento de una base incorrecta a concentraciones saturantes del nucleótido. En contraste, la polimerasa del T7 en su cambio conformacional es extremadamente sensitiva para captar la geometría del nucleótido correcto; la tasa de incorporación de un nucleótido incorrecto es de 2000 a 4000 veces más baja para el T7. Los análisis con análo-



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

La transcriptasa
reversa del VIH:
estudios estructurales
y cinéticos

gos de nucleótidos han confirmado que el criterio primario para la selección en el segundo paso es la geometría de cada nucleótido.

La transcriptasa reversa del VIH debe acomodar los duplex generados de cada reacción, es decir las hebras de ARN-ADN y ADN-ADN, las cuales pueden formar una alfa hélice. Debido a esto, la TR podría ser incapaz de restringir la geometría del apareamiento del mismo modo como lo hacen las otras polimerasas de ADN, teniendo esto como consecuencia una mayor tendencia a la incorporación de un nucleótido erróneo y por ende la generación de mutantes.

Selectividad adicional

Parte de la energía intrínseca del enlazamiento del nucleótido debe ser utilizada para inducir un cambio en la conformación de la proteína del estado abierto al estado cerrado. La selectividad adicional es proporcionada por este mecanismo, ya que el cambio conformacional y no las propiedades químicas, es la etapa limitante de la reacción²³.

Una vez que los pasos elementales del ciclo cinético han sido definidos, los parámetros, K_{cat} y K_m pueden ser interpretados directamente, y dadas estas constantes se pueden deducir las características de los parámetros del estado estacionario. Si estos son medidos bajo las condiciones apropiadas durante la síntesis, con la certeza de que la disociación del ADN no limite la tasa neta, entonces la K_m es igual a la K_d y la tasa máxima, K_{cat} , será igual a K_{pol} . A partir de esto, la selectividad puede ser calculada de la siguiente manera:

$$K_{cat}/K_m = K_{pol}/K_d$$

De estos cálculos se pudo deducir que la polimerasa del fago T7 procesa 17 residuos en aproximadamente 80 mseg, se estima que la TR del VIH posee valores similares de velocidad de elongación.

Inhibidores enzimáticos y agentes terapéuticos

La emergencia del SIDA y el rol fundamental que juega la TR en la replicación retroviral han hecho de esta enzima un gran blanco en la búsqueda de inhibidores específicos. Sería imposible mencionar en este corto ensayo la gran cantidad de información que se ha generado acerca de los inhibidores

de la transcriptasa reversa del VIH. Sin embargo, mencionaremos algunos de ellos, agrupándolos en tres categorías o familias de compuestos.

Oligonucleótidos

Esta clase de moléculas pueden inhibir la síntesis de ADN vía transcripción reversa de manera sentido o antisentido. La sensibilidad exquisita que muestra la polimerasa viral por los oligonucleótidos puede relacionarse o parecerse a las inhibiciones que se observan para los ARNs o fragmentos de ellos en la síntesis del ADN viral²⁴. La posibilidad de dirigir moléculas que se parezcan a los sustratos naturales de muchas enzimas contra los sitios activos de las mismas es una facultad que ha sido considerablemente explotada. Para el caso de los oligonucleótidos se han usado derivados de oligofosforotioles y ditioatos que corresponden a las porciones de los ARNs que interaccionan con la enzima.

La estrategia antisentido, basada en la formación de un heteroduplex complementario y estable, ha sido también utilizada para silenciar la expresión de genes en eucariotas. Aunque este tipo de metodología es relativamente nueva en el campo de la virología, los resultados han sido buenos, en el caso del VIH se han observado fuertes inhibiciones cuando se incuban células que han sido infectadas con VIH tipo 1 con oligodesoxinucleótidos complementarios a regiones específicas del genoma viral²⁵. También se ha documentado que la actividad RNasa H se inhibe mediante el uso de estos compuestos²⁶.

Análogos de nucleósidos

Los nucleósidos inhibidores de la transcriptasa reversa (NITR) fueron los primeros agentes antivirales que se usaron a nivel clínico. Su eficacia como antiretrovirales ha sido bien establecida y a pesar de las emergencias de cepas resistentes, se encuentran aún entre las drogas de mayor importancia en el tratamiento de la enfermedad. Sorprendentemente, el aislamiento de la arabinofuranosil timina y el arabinofuranosil de la esponja caribeña *Cryptotheca crypta*, guió a una eventual investigación de los efectos antivirales de los nucleósidos²⁷. Alguno de ellos ya han sido aprobados por la FDA (food and drugs administrations, US) para su uso terapéutico, entre ellos se encuentran el 3TC (Lamivudina), Zalcitavina (HIVID), Zidovudina o AZT (Retrovir), ddI (Videx) y d4T (Zerit). Los

NITR son prodrogas, los cuales son trofosforilados por kinasas celulares para luego funcionar como inhibidores competitivos y terminadores de las cadenas en formación²⁸.

Compuestos inhibidores no nucleósidos

El primer inhibidor de la TR de tipo no nucleósido (NNITR) que se identificó fue la Nevirapina (Viramune), la cual fue aislada de una librería de antagonistas de receptores muscarínicos²⁹. En los años siguientes ésta, junto con la Delvaviridina (Rescriptor) fueron aprobadas por la FDA.

Estudios cinéticos han mostrado que estos tipos de compuestos no interaccionan con la TR de manera competitiva. Investigaciones en cristalografía del complejo Nevirapina-TR demostraron que la droga se enlaza a la enzima en un sitio diferente al cual interaccionan el cebador y los dNTPs, apoyando la idea de una inhibición de tipo no competitiva³⁰.

Por todas estas características encontradas en esta proteína, diversos investigadores la han catalogado como una super enzima, la cual puede realizar un trabajo equivalente a algunos complejos enzimáticos encontrados en gran cantidad de organismos. La TR del VIH, posee gran eficiencia, procesividad y selectividad y realiza las diversas polimerizaciones dentro de la cápside viral, lo que la ubica dentro de la categoría de las enzimas de mayor multifuncionalidad que se haya estudiado en el campo de la bioquímica y biología molecular.

REFERENCIAS

1. Kornberg, A. (1998). DNA replication. *Journal of Biological Chemistry*. 263:1-4
2. Temin, H y Mizutani, S. (1970). RNA- directed DNA polimerase in virions of Rous Sarcoma virus. *Nature*. 226: 1211-1213.
3. Garfinkel, D.J., Boeke, J.D., Fink, G.R.. (1985). *Cell*. 42:507-517.
4. Ivanov, V. A., Melkinov, A., Siunov, A. V., Fodor, I.I., Lyin, Y.V. (1991) *EMBO Journal*. 10: 2489-2495.
5. Dombroski, B.A., Mathias, S.L., Nanthakumar, E., Scott, A., Kazazian, H. (1991). *Science*. 294: 1805-1808.

6. Ben-Artzi, H., Zeelon, E., Le-Grice, S., Gorecki, M., Panet, A. (1992). *Nucleic Acids Research*. 20: 5115-5118.
7. Tanese, N., Goff, S. (1998). *PNAS USA*. 85: 1777-1781.
8. Restle, T., Muller, B., Goody, R. (1990). *Journal of Biological Chemistry*. 265: 8986-8988.
9. Jacobo-Molina, A., Ding, J., Nanni, R., Clark, A., Lu, X., Tantillo, C., William, R., Kramer, G., Ferris, A., Clark, P., Hizi, A., Hughes, S, Arnold, E. (1993). *PNAS USA*. 49: 6320-6324.
10. Schwartz, D., Tizard, R, Gilbert, W. (1983). *Cell*. 32: 853-869.
11. Wilson, W., Braddock, M., Adams, D., Rathjen, P., Kingsman, S., Kingsman, A. (1988). *Cell*. 55: 1159-1169.
12. Gorelick, R., Henderson, L., Hanser, J., Rein, A. (1988) *PNAS USA*. 85: 8420-8424.
13. Litvak, S., Araya, A. (1982) *Trends Biochemistry Science*. 7: 361-364.
14. Darlix, J. (1991) *Bulletin of Institute Pasteur*. 89:211-242.
15. Majumdar, C., Abbotts, J., Broder, S., Wilson, S. (1988). *Journal of Biological Chemistry*. 263: 15657-15665.
16. Gopalakrishnam, V., Peliska, J., Benkovic, S., (1991). *PNAS USA*. 89: 10763-10767.
17. Kolstaed, L., Wang, J., Friedman, J., Rice, P., Steitz, T. (1992). *Science*. 256: 1783-1790.
18. Tarrago-Litvak, L., Andreola, M.L., Nevinski, G.A., Sarih-Cottin, L., Litvak, S. (1994). 8 (8): 497-503.
19. Kuchta, R., Benkovic, P., Mizrahi, V., Jonhson, K., Benkovic, S. (1987) *Biochemistry*. 26: 8410-8417.
20. Kati, V., Jonhson, A., Jerva, L., Anderson, S. (1992). *Journal of Biological Chemistry*. 267: 25988-25997.
21. Jonhson, K.A. (1993) *Annual Reviews of Biochemistry*. 62: 685-713.
22. Jonhson, K.A. (1992) *Enzymes*. 20:1-61.
23. Fersht, A., Knill-Jones, J., Tsui, W. (1982). *Journal of Molecular Biology*. 156:37-51.
24. Bordier, B., Tarrago-Litvak, L., Sallafrank-Andreola, M., Robert, D., Tharaud, D., Fournier, M., Barr, P., Litvak, S., Sarih-Cottin, L. (1990) *Nucleic Acids Research*. 18. 429-436.
25. Zamecnik, P., goochild, J., Taguchi, Y., Sarin, P. (1986). *PNAS*. 83: 4143-4146.
26. Bordier, B., Helene, C., Barr, P., Litvak, S., Sarih-Cottin, L. (1992). *Nucleic Acids Research*. 20: 5999-6006.
27. Majundar, C., Abbotts, J., Broder, S., Stein, C., Cohen, J., Wilson, S. (1989) *Biochemistry*. 28: 1340-1346.
28. Nevinsky, G., Andreola, M., Jamkovoy, M., Levina, A., Tarrago-Litvak, L., Tharaud, D., Litvak, S. (1992). *European Journal of Biochemistry*. 207:351-358.
29. Sobol, R., suhadolnik, R., Kumar, A., Lee, B., Hatfield, D., Wilson, S. (1991) *Biochemistry*. 30:10623-10631.
30. Hostomsky, Z., Hudson, G, Rahmati, S., Hostomska, Z. (1992) *Nucleic Acids Research*. 20: 5819-5824.



VARIABILIDAD GENÉTICA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH): IMPORTANCIA EN EL DESARROLLO DE VACUNAS

(GENETIC VARIABILITY OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS, HIV-1: ITS IMPORTANCE IN VACCINE DEVELOPMENT)

***Dr. Carlos Darío Ramírez M.**

Instituto de Biología Experimental (IBE). Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela (UCV).

RESUMEN

La extraordinaria diseminación del VIH-1 en los humanos en los últimos 40 años, representa uno de los ejemplos más dramáticos de expansión y transmisión del genoma viral. Una característica que por demás ha contribuido a la pandemia, es la extrema variabilidad genética del virus y su alta capacidad mutagénica, lo que a su vez dificulta el diseño de métodos terapéuticos o el desarrollo de vacunas. Los ensayos actuales sobre vacunas se basan en los aislados del virus, con la esperanza que los mismos puedan tener reactividad cruzada que permita proteger a los individuos contra las cepas de virus circulantes. Los análisis filogenéticos que se iniciaron a principios de 1990, revelaron que el VIH-1 puede ser dividido en diferentes clados o subtipos. Sin embargo, mucho del conocimiento que se generó estaba basado en información de los países del hemisferio occidental, donde el subtipo B es el predominante. Actualmente se conoce de al menos 24 formas genéticas circulantes del VIH-1, incluyendo 11 subtipos o sub-subtipos y 13 formas recombinantes circulantes o CRFs. Nuevas formas genéticas están siendo introducidas en el mundo, lo que representa un reto para la epidemiología molecular de la infección y el desarrollo de nuevas herramientas terapéuticas y el desarrollo de vacunas. Esta revisión presenta un panorama actualizado de la variabilidad genética del VIH-1, su distribución geográfica y las implicaciones para el desarrollo de vacunas y nuevos métodos terapéuticos.

PALABRAS CLAVE: VARIABILIDAD GENÉTICA, VIH-1, SUBTIPOS, VIRUS RECOMBINANTES, DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

ABSTRACT

The extraordinary dissemination of the HIV-1 in the humans in the last 40 years, represents one of the most dramatic examples in expansion and transmission of the viral genome. A characteristic that excessively has contributed to the pandemic, it is the extreme genetic variability of the virus and their high mutagenic capacity, that in turn hinders the design of therapeutic methods or the development of vaccine. The current rehearsals on you vaccinate they are based on the isolated of the virus, with the hope that the same ones can have crossed reactivity that allows to protect the individuals against the circulating virus stumps. Phylogenetic analyses that began at the beginning of 1990's, revealed that the HIV-1 it can be divided in different clades or subtypes. However, much of the knowledge that was generated was based on information of the countries of the western hemisphere, where the subtype B is the predominant one. At the moment it is known of at least 24 circulating genetic forms of the HIV-1, including 11 subtypes or sub-subtypes and 13 circulating recombinantes forms or CRFs. New forms genetics are being introduced in the world, what represents a challenge for the molecular epidemiology of the infection and the development of new therapeutic tools and the development of vaccine. This review presents an up-to-date point of view of the genetic variability of the HIV-1, its geographical distribution and the implications for the development of vaccine and new therapeutic methods.

KEYWORDS: GENETIC VARIABILITY, HIV-1, SUBTYPES, RECOMBINANT VIRUS, GEOGRAPHIC DISTRIBUTION.

* Calle Suapure, Colinas de Bello Monte. Apartado 47114-1041. Caracas, Venezuela.
Telefax: (+58-212) 7535897. E-mail: cramirez@hramirez.net

INTRODUCCIÓN

Una de las principales características del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es la extremadamente alta variabilidad genética. Se considera que tal heterogeneidad se debe a dos factores fundamentalmente. El primero de ellos ha sido la múltiple introducción de virus simianos genéticamente diversos en los humanos (Hahn y col., 2000). Se ha demostrado que numerosos primates africanos se infectan con el virus de la inmunodeficiencia simiana (VIS), y que los dos tipos virales que infectan a los humanos, el VIH-1 y el VIH-2, representan una transmisión zoonótica de dos fuentes diferentes; los chimpancés (*Pan troglodytes*) y los monos del género *Cercocebus* (*Cercocebus atys*), respectivamente (Gao y col., 1999; Hirsch y col., 1989; Gao y col., 1992). El segundo factor ha sido la rápida acumulación de diversidad debido a la alta tasa de error de la transcriptasa reversa y el rápido recambio de viriones entre los individuos infectados (Preston y col., 1988; Wei y col., 1995; Ho y col., 1995). Se conoce que la transcriptasa reversa es altamente recombinogénica, de manera que combinaciones genómicas radicalmente diferentes pueden ser generadas en los individuos afectados por virus genéticamente diversos (Hu y Temin, 1990).

Los análisis filogenéticos de numerosas cepas de VIH-1, aisladas de diversos orígenes geográficos, han revelado que ellas se pueden subdividir en grupos, subtipos, sub-subtipos y formas recombinantes circulantes (CRF, circulating recombinant forms) (Robertson y col., 1999, 2000). Estos autores recomiendan una revisión en la clasificación de las cepas del virus, que se basa en los siguientes aspectos:¹ la identificación de las formas recombinantes distribuidas ampliamente en poblaciones y áreas geográficas (CRFs)²; la re-clasificación de los subtipos E y I como CRF³; la validación del concepto de sub-subtipos geográficos; y⁴ la necesidad de al menos tres genomas completos para la identificación nuevos subtipos, sub-subtipos y CRF.

DIVERSIDAD GENÉTICA

El VIH-2 fue el primer lentivirus en el que se demostró fehacientemente los criterios zoonóticos de transmisión a los humanos (Hahn y col., 2000). De hecho, los tipos de VIH-2 que infectan a los humanos comprenden seis diferentes linajes-grupos filogenéticos (anteriormente conocidos como subtipos) conocidos como A, B, C, D y F (<http://www.hiv-web.lanl.gov>). Sin embargo, la

pandemia mundial es causada fundamentalmente por el VIH-1 (Figura 1). La información actual sugieren que el VIH-1 comprende tres grupos distintos de virus, denominados M (Main group), O (Outlier group) y N (Non-M, Non-O) (Perrin y col., 2003; Robertson y col., 2000). El grupo M causa la mayoría de las infecciones y la enfermedad, el mismo consiste de 11 clados, denominados desde A hasta F.

La identificación de nuevos clados de VIH-1 y la confirmación de la existencia de las CRFs, subsecuentemente caracterizadas por la secuenciación completa del genoma, ha dado lugar a alteraciones en la clasificación (Robertson y col., 2000). A una escala global, las infecciones del VIH-1 son generalmente causadas por los virus del grupo M. Los virus del grupo O se limitan a personas viviendo o que epidemiológicamente están ligadas con África Central, especialmente Camerún y los países vecinos donde una alta diversidad del VIH-1 puede ser observada. Sin embargo, aun en esta área ellas representan una minoría de las infecciones por el VIH-1. Únicamente unos pocos casos de infecciones por virus del grupo N, todas en Camerún, han sido hasta el momento reportadas.

Dentro del grupo M, nueve diferentes subtipos se pueden reconocer, identificados por las letras A hasta D, F-H, y K, de los que se piensa que todos se han originado en África Central. Los subtipos forman agrupaciones (clusters) estrechamente equidistantes cada uno de otro en los árboles filogenéticos. Dentro de los subtipos A y F, se pueden distinguir sub-agrupaciones separadas, denominadas sub-subtipos A1 y A2, y F1 y F2, cada par de los sub-subtipos más estrechamente ligados entre sí que entre otros subtipos. Algunos subtipos comparten una localización geográfica, mientras que otros parecen tener un ancestro similar, como son los casos en los que se incluyen los virus del subtipo G de España y Portugal, los virus del subtipo B de Tailandia y los virus del subtipo C de áreas tan geográficamente diversas como India o Etiopía (Thomson y col., 2001; Delgado y col., 2002; Rinde de Wit y col., 2002; Esteves y col., 2002; Zewde y col., 2002; Yang y col., 2002; Sánchez-Merino y col., 2003).

Una forma recombinante o CRF se define cuando tres individuos epidemiológicamente no ligados tienen virus recombinantes inter-subtipo dentro de ellos, y el cual se identifica por la secuenciación genómica completa (alrededor de 10 kb para cada uno) (Robertson y col., 2000). La primera CRF fue identificada originalmente por análisis de la



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

Variabilidad genética del virus
de la inmunodeficiencia
humana (VIH): importancia
en el desarrollo de vacunas

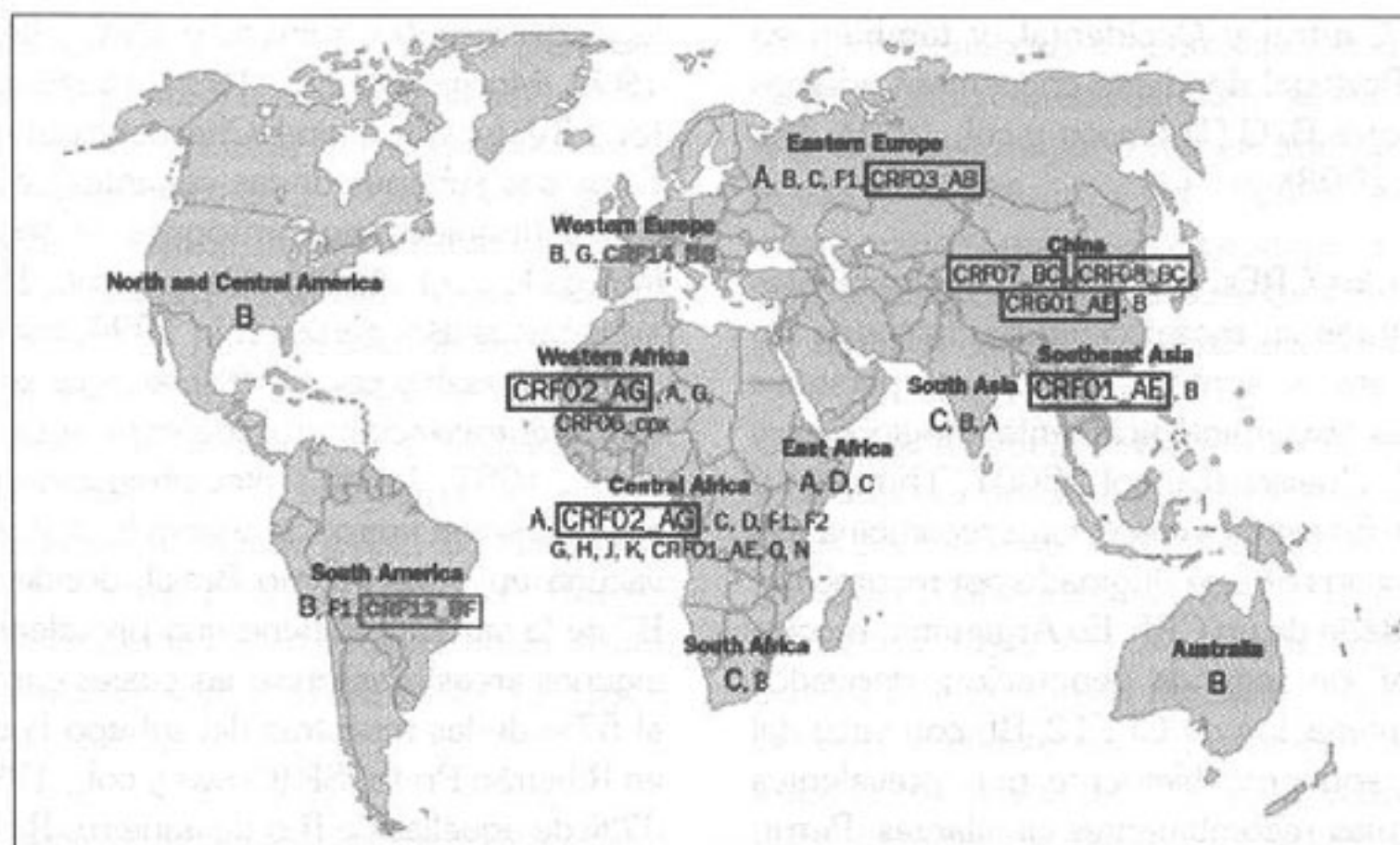


Figura 1. Distribución global del VIH. Los subtipos prevalentes y las variantes virales se indican con letras mayúsculas.

secuencia completa de virus de África Central y Tailandia. Una porción importante del genoma de este virus deriva del subtipo A, lo cual sugiere un origen por recombinación entre este subtipo y uno no identificado hasta el presente, el subtipo E. Los CRFs se identifican por números correlativos al orden de su descubrimiento seguido por las letras de los subtipos parentales (U designa a los segmentos no clasificados), o cpx (por complejos) para virus recombinantes que se piensan derivan de tres o mas subtipos parentales. Para el 2003, al menos 24 CRFs habían sido reportados, la mayoría de los cuales tienen origen africano (Swanson y col., 2003; Ramos y col., 2003; Thomson, Pérez-Álvarez y Najera, 2002). Cinco de las cuales parecen haberse originado fuera de África, en áreas donde circulan cepas parentales. La importancia de las CRFs se destaca en estudios recientes donde se demuestra que cerca de una quinta parte de las nuevas infecciones se deben a ellas (Osmanov y col., 2002).

Distribución geográfica de las variantes del VIH-1

La principal forma genética, y el primer virus identificado, fue el subtipo B, que se encuentra distribuido principalmente en Europa Central y Occidental, las Américas y Australia (Smith y col., 2003). El subtipo B es común también en varios países de Asia, África del Norte y el Medio Oriente, y entre hombres homosexuales de Sudáfrica y Rusia (Osmanov y col., 2002; Kuiken y col., 2000).

A escala mundial, las formas genéticas más prevalentes son los subtipos C, A (sub-subtipo A1), B, y CRF02_AG (Fig. 1). Muchas infecciones de la zona sur de África, China, India y Etiopía son causadas por el subtipo C, el cual circula pero en forma menor en Brasil y Rusia. Virus recombinantes con porciones del subtipo C son comunes en Tanzania, y dos CRFs con genomas predominantes del subtipo C, CRF07_BC y CRF08_BC, son prevalentes entre usuarios de drogas inyectadas en China (Yang y col., 2002). Los virus del subtipo A son predominantes en áreas de África Central (Kenia, Tanzania, Uganda y Ruanda) (De Cock y col., 2002), y en los países de Europa del este que anteriormente constituían la Unión Soviética (Bobkov y col., 1997), donde se transmite principalmente en adictos a las drogas por inyección. La forma genética más prevalente en África Occidental y en partes de la Central, es la forma recombinante del virus, CRF02_AG. En el sureste de Asia circula ampliamente la forma CRF01_AE, la cual es de ancestro Centro-Africano (Cáliz y col., 1995; Magiorkinis y col., 2002; Subbarao y col., 2000). Esta variante se propagó originalmente entre prostitutas de Tailandia y más recientemente se encuentra entre drogadictos, y se ha propagado a todos los países en la vecindad, incluyendo a China, Japón y Corea (Magiorkinis y col., 2002).

El subtipo D es común en un área más localizada, especialmente en África del Este (Uganda, Tanzania y Kenia); el subtipo F (sub-subtipo F1; Triques y col., 1999), predominante en Rumania (Lukhasov y col., 1995); el subtipo G, que circula

en África Central y Occidental, y también en España y Portugal donde se encuentran además recombinantes B/G (Thomson y col., 2001; Duque y col., 2003).

Además de los CRFs, varios virus recombinantes con estructuras en mosaico únicas, han sido reportados para personas o unas pocas personas relacionadas epidemiológicamente (Magiorkinis y col., 2002; Hoelscher y col., 2001; Thomson y col., 2002). En algunos casos, virus recombinantes únicos parecen haberse originado por recombinación secundaria de un CRF. En Argentina, recombinantes BF de segunda generación, derivados de la recombinación de CRF12_BF con virus del subtipo B, son probablemente más prevalentes que las formas recombinantes circulantes (Perrin y col., 2003; Thomson y col., 2002; Thomson y col., 2000). Estos datos sugieren la posibilidad de reinfección con un subtipo diferente (Altfeld y col., 2002), y que la superinfección no es un fenómeno tan raro como se pensaba anteriormente (Valer y col., 2003). Además del subtipo B, en Suramérica se encuentran los subtipos F y C, y se han reportado recombinantes B/F en Brasil y Argentina.

Varios estudios de la epidemiología molecular del VIH-1 en Brasil mostraron el predominio del subtipo B, con la presencia de subtipos adicionales como F (Morgado y col., 1994, 1996, 1998a, Galvão-Castro y col., 1996, Tanuri y col., 1999, Brazilian Network for HIV Isolation and Characterization 2000), C (WHO 1994, Loureiro y col., 1998, Antunes 1998), D (Morgado y col., 1998a, Tanuri y col., 1999) y, más recientemente, la presencia de subtipo A (Caride y col., 2001, Guimarães y col., 2001). También se han descrito virus Recombinantes de B/F y de B/C (Sabino y col., 1994, Gao y col., 1996, Cornelissen y col., 1996, Tanuri y col., 1999, Vicente y col., 2000, Guimarães y col., 2001), además de las infecciones de subtipos duales (Janini y col., 1996, 1998, Ramos y col., 1999).

Debido al interés para propósitos de la vacuna, la mayoría de los estudios iniciales se realizaron basados originalmente en el análisis del gen de la cubierta (*env*), y, más recientemente con los genes *gag* y para las regiones de la polimerasa genómica. Además de la diversidad inter-subtipo, diferencias genéticas y antigénicas han sido descritas entre los virus del sub-tipo B" que circulan en Brasil, con la identificación de una variante del subtipo que se denominó B, el cual difiere del subtipo clásico por la presencia del motivo GWGR en la punta del "loop" V3 de la proteína gp120 de la cubierta, en

lugar del distintivo molecular GPGR (Potts y col., 1993, Morgado y col., 1994, Brazilian Network for HIV Isolation and Characterization 2000). Estos dos subtipos de las variantes de B pueden ser distinguidos por enfoques tanto genéticos (Morgado y col., 1998b, Covas y col., 1998) como antigénicos (Bongertz y col., 1994, Hendry y col., 1996, Casseb y col., 1998), aunque se ha observado neutralización cruzada entre ellos (Bongertz y col., 1997, 1998). Tales observaciones son de consideración importante para la evaluación de la vacuna en países como Brasil, donde el subtipo B" de la variante B tiene una prevalencia alta en algunas áreas brasileñas, las cuales corresponden al 57% de las muestras del subtipo B detectadas en Ribeirão Preto, SP (Covas y col., 1998) y en el 37% de aquéllas de Río de Janeiro, RJ (Morgado y col., 1998a, b).

Brasil es un país grande y diferencias en el modelo de distribución del subtipo se han identificado entre las distintas regiones geográficas. De hecho, considerando que se observaron proporciones similares de subtipos B y F en un estudio dirigido en Manaus (norte de Brasil) (Vicente y col., 2000), en el sureste, varios estudios han mostrado el predominio del subtipo B (~85%) seguido por el subtipo F (~10-15%) (Morgado y col., 1994, 1998a, Tanuri y col., 1999, Brazilian Network for HIV Isolation and Characterization 2000). Es más, un predominio claro del subtipo B (> 90%), con los casos muy limitados de subtipos F y C, se observó en las muestras de VIH-1 del noroeste (Couto-Fernández y col., 1999) y centro-oeste (Stefani y col., 2000), respectivamente. La presencia del subtipo C en el sur Brasil se descubrió inicialmente en 1 de 5 muestras de VIH-1 que se colectaron en Porto Alegre, RS, en un estudio internacional de la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1994). En un reciente análisis dirigido por el grupo de Morgado (Morgado et al, 2002), se observaron muestras del subtipo C del VIH-1 en 34% muestras infectadas que se colectaron en Porto Alegre en 1998, que contrasta fuertemente con el patrón de la distribución del subtipo del VIH-1 que se verificó para otras regiones geográficas brasileñas. Este subtipo parece estar extendiendo por todo el mundo y es la cepa más prevalente en la pandemia SIDA (Esparza y Bhamarapravati 2000).

Siguiendo el modelo brasileño, estudios de la epidemiología molecular de VIH-1 en otros países de América del Sur también mostraron el predominio del subtipo B, con la presencia de subtipos adicionales como F en Argentina, Bolivia, Uruguay, Perú, Paraguay, y Venezuela (Campodonico y col.,



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

Variabilidad genética del virus
de la inmunodeficiencia
humana (VIH): importancia
en el desarrollo de vacunas

1996, Marquina y col., 1996, Velarde-Dunois y col., 2000, Masciotra y col., 2000, Russel y col., 2000, Castro y col., 2003) y casos aislados de A en Chile (Desgranges y col., 1998), Perú (Russel y col., 2000) y Guyana francesa (Kazani y col., 2001) y E en Uruguay (Artenstein y col., 1995). Es más, también se han descrito virus recombinantes de B/F y/o CRF_012_B/F en Argentina (Marquina y col., 1996, Fernández-Medina y col., 1999, Carr y col., 2001), Uruguay (Carr y col., 2001) y Venezuela (Delgado y col., 2001, Castro y col., 2001, Castro y col., 2003). Los datos de Colombia y Ecuador han mostrado hasta ahora sólo la presencia de subtipo B (Navas y col., 1999, Russel y col., 2000).

El cuadro general de los subtipos y virus recombinantes del VIH-1 que circulan en los países Suramericanos se muestran en la Figura 1. En general, un patrón de distribución muy similar se observa entre los países que ciertamente se reflejarán en estrategias similares de vacunas contra el VIH/SIDA para Suramérica.

Variabilidad genética y desarrollo de vacunas

La primera generación de conceptos para el desarrollo de una vacuna contra el VIH favoreció la respuesta inmune humoral protectora, caracterizada por la presencia de anticuerpos neutralizantes principalmente al "loop" V3 de la envoltura viral. La primera Fase del protocolo, que correspondió a una proteína recombinante de gp160 empezaron en 1987, menos de 5 años después de la identificación del virus (Dolin y col., 1991). Se siguieron varios otros protocolos también enfocándose en la proteína gp120 de la envoltura o a la proteína completa gp160, producida en diferentes sistemas celulares por distintas iniciativas de diseñadores de vacunas (revisado en Bojak y col., 2002). De hecho, la primera vacuna VIH-1 presentada en ensayo de eficacia en Fase III correspondió a este concepto de la vacuna (Francis y col., 1998). Este ensayo de eficacia está siendo conducido ahora en EE.UU. y Tailandia usando, respectivamente, subtipo de vacunas bivalentes VIH-1 gp120 B/B y B/E (Berman y col., 1999), y los primeros resultados se esperan pronto. Sin embargo, la dificultad para neutralizar aislados primarios del virus siempre era un factor limitante de éstos conceptos de la vacuna (Mascola y col., 1996), los cuales son incapaces de inducir anticuerpos contra epítopes neutralizantes altamente conservados (revisado por Moore y col., 2001). Aunque no hay ninguna correlación entre

VIH-1 los subtipos y neutralización del virus, la neutralización cruzada del clado ha sido descrita en una magnitud mayor o menor por varios autores (revisado por Moore y col., 2001), reflejando de esta manera la presencia de epítopes comunes del anticuerpo, por lo menos entre las agrupaciones de los subtipos de VIH-1 y variantes del virus.

Un factor altamente relevante descrito en años recientes por muchos grupos de investigación era la asociación entre la presencia de VIH-1 y los linfocitos T citotóxicos CD8+ (CTL) y la disminución de la carga viral del plasma en la infección por VIH (revisado por Brander y Walker 1999). De hecho, una correlación negativa se demostró entre la frecuencia de CTL y la progresión de la enfermedad en los individuos infectados por el VIH (Klein y col., 1995, Musey y col., 1997). También, se observaron aumentos dramáticos en la carga viral en los macacos crónicamente infectados por SIV después del tratamiento por eliminación de los linfocitos T CD8+ que coincidentalmente disminuye con la reaparición de células CD8+ (Jin y col., 1999, Schmitz y col., 1999). Estos resultados han fortalecido la importancia de la inmunidad mediada por células en el control de la infección y la progresión de la enfermedad, lo cual condujo a un re-direccionamiento de los protocolos para la vacuna VIH y la utilización de vectores vivos capaces de inducir la presentación al MHC de péptidos antigénicos a los linfocitos-T CD8+. Además, se ha demostrado reactividad cruzada amplia a los epítopes de los CTL localizados en las regiones muy conservadas del genoma entre los subtipos del VIH-1 (Ferrari y col., 1997, Cao y col., 1997, McAdam y col., 1998), aunque se han descrito reacciones de magnitud superior para las respuestas de CTL subtipo-específicas (Rowland-Jones y col., 1998, Cao y col., 2000, Novitsky y col., 2001).

En este sentido, se han probado ya virus recombinantes de varicela y conceptos de vacunas de ADN en ensayos clínicos Fase I. Aproximaciones alternativas promisorias basadas en vectores, como el polio-virus recombinante, el virus de la encefalitis equina venezolana (VEE), BCG, la salmonela y shigela, entre otras, está bajo el desarrollo como candidatas a vacunas de VIH (revisado por Bojak y col., 2002).

Por otra parte, no se observaron respuestas CTL específicas en protocolos de voluntarios vacunados con proteínas recombinantes del VIH-1; por otro lado, una producción limitada de anticuerpos neutralizantes también fue observada cuando se administraron vacunas recombinantes del virus de

la varicela (Mulligan y Weber, 1999). Considerado la relevancia de la respuesta inmune y la inmunidad humoral mediada por células en el control del VIH, se han propuesto aproximaciones de la vacuna más prometedoras, denominadas como el régimen del primer-empujón incluyendo los conceptos de vacuna con perfiles inmunogénicos complementarios, asociado con la inclusión de componentes multi-antigénicos que consisten de genes estructurales seleccionados del VIH-1, así como los de genes regulatorios que codifican antígenos. En conjunto, estos tipos de acercamientos de la vacuna están intentando amplificar la respuesta inmune al virus, induciendo una inmunidad humoral duradera y mediada por células de carácter multi-específica capaces de prevenir la infección de VIH y/o la progresión de la enfermedad.

Desde el primer ensayo en los humanos de la vacuna VIH al final de los años ochenta, alrededor de 30 diferentes vacunas candidatas para el VIH-1 se han probado en más de 60 ensayos clínicos fase I/II (ver Bojak y col., 2002 para una actualización). La mayoría de ellos se han realizado en EE.UU. y Europa, pero otros ya se han realizado en países en desarrollo como Tailandia, China, Cuba, Uganda y Brasil (Esparza y Bhamarapravati 2000, WHO-UNAIDS Informe 2001).

Los subtipos de VIH-1 están geográficamente distribuidos, con múltiples subtipos y virus recombinantes co-circulando en muchas áreas del mundo. Todos ellos se transmiten similarmente a través del contacto sexual, la contaminación de sangre, y verticalmente de la madre al niño.

La variabilidad nucleotídica entre los subtipos del VIH-1 mostró un 20% para la cubierta, 16% para la proteína estructural gag y 13% para las regiones de la polimerasa genómica (Robertson et al. 1999). Esta alta variabilidad genética tiene influencia directa en la constitución antigénica de estos virus. De hecho, los análisis comparativos de las células B relevantes, las células T CD4+ y los linfocitos T- citotóxicos CD8+ (CTL) de los epítopes localizados en estas regiones mostraron un nivel importante de variabilidad en una magnitud mayor o menor entre los subtipos del VIH-1 (HIV Molecular Immunology 2000).

Es por lo tanto importante saber si las cepas circulantes del VIH-1 en los países donde la vacuna se usará tentativamente, están genética y antigénicamente relacionadas con el prototipo de la vacuna a probarse. Para obtener este tipo de información, es necesario mantener un programa de vigilancia

molecular del VIH, verificando sistemáticamente la distribución de los subtipos del VIH-1, así como la introducción de nuevas variantes.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

El descubrimiento de un gran número de virus recombinantes claramente implica que la co-infección con cepas divergentes del VIH-1 no es un evento raro. Por el contrario, las infecciones duales con diferentes subtipos han sido reportadas en regiones geográficas donde co-circulan múltiples variantes (Artenstein y col., 1995; Janini y col., 1998; Peeters y col., 1999; Quiñones-Mateu y col., 1999). En cualquier región geográfica, la proporción de virus recombinantes dependerá de varios factores, entre los que se incluyen la tasa de prevalencia de los diferentes subtipos, la probabilidad que ciertos grupos de población adquieran infecciones múltiples y transmitan los virus, al igual que la eficiencia de los virus mosaico generados en estos eventos. Queda claro entonces que, la frecuencia de la recombinación está aumentando cada vez más, ya que la recombinación es un evento que una vez ocurrido no se puede deshacer, y que por lo tanto, la frecuencia de subtipos de cepas "puras" tiende a disminuir. La recombinación entre cepas diversas puede contribuir eficientemente a la emergencia de nuevas variantes virales, lo cual podría tener importantes implicaciones tanto para el diagnóstico, mediante pruebas sexológicas o moleculares, como para el tratamiento.

La epidemia de VIH/SIDA es un proceso dinámico que evoluciona rápidamente, cuya epidemiología puede ser realizada por medio de herramientas genéticas, inmunológicas y moleculares. Las infecciones actuales están principalmente asociadas con los viajeros y son causadas por subtipos no-B y CRFs, y ello incrementa la diversidad del VIH-1, especialmente en la región asiática, centro y Suramérica; lo que a su vez conlleva a la aparición de nuevas formas recombinantes.

El tratamiento de la infección por el VIH-1 ha sido revolucionado por la introducción en el mercado de la terapia antiretroviral altamente activa (HAART, highly active antiretroviral therapy). En los países donde está disponible, la misma ha reducido la mortalidad a corto plazo de los infectados, y ha incrementado la calidad de vida previniendo las enfermedades oportunistas (Palella F y col., 1998; Hammer, 2002). Pero la emergencia de cepas mutadas del VIH-1, con resistencia a una o más clases de drogas antiretrovirales sigue siendo



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

Variabilidad genética del virus
de la inmunodeficiencia
humana (VIH): importancia
en el desarrollo de vacunas

una causa importante de falla en el tratamiento. La diversidad genética del VIH-1, tal y como ha sido demostrada por la secuenciación a gran escala y el esfuerzo colaborativo a nivel mundial, nos enfrenta a nuevos retos para el desarrollo de nuevos tratamientos y de vacunas, siendo necesario el desarrollo de pruebas genotípicas y fenotípicas que permitan el manejo terapéutico guiado debido a la resistencia a los medicamentos.

REFERENCIAS

- Altfield M, Allen T, Yu X, et al., 2002. HIV-1 superinfection despite broad CD+8 T-cell responses containing replication of the primary virus. *Nature* 420:434-439.
- Antunes CV 1998. Molecular epidemiology of HIV/AIDS in southern Brazil. 12th World AIDS Conference, Geneva, June 28- July 3, abst. 61003, p.1183.
- Artenstein AW, Coppola J, Brown AE, Carr JK, Sanders-Buell E, Galbarini E, Mascola JR, VanCott TC, Schonbrood P, McCutchan FE 1995. Multiple introductions of HIV-1 subtype E into the western hemisphere. *Lancet* 346 (8984): 1197-1198.
- Bobkov A, Cheingson-Popov R, Selimova L, et al., 1997. An HIV type 1 epidemic among injecting drug users in the former Soviet Union caused by a homogeneous subtype A strain. *AIDS Res Hum Retroviruses* 13:1195-1201.
- Bojak A, Deml L, Wagner R 2002. The past, present and future of HIV-vaccine development: a critical view. *Drug Discov Today* 7: 36-46.
- Bongertz V, Costa CI, Guimarães ML, Soares da Costa MFG, Grinsztejn B, HEC/Fiocruz AIDS Clinical Research Group, Bastos FI, Pilotto JH, João Filho EC, Loureiro R, Chequer P, Telles PR, Galvão-Castro B, Morgado MG 1998a. HIV specific humoral immune response in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 391-398.
- Bongertz V, Costa CI, Guimarães ML, Grinsztejn B, João Filho EC, Galvão-Castro B, Morgado MG 1998b. Neutralization susceptibility of B subtype variant B" primary HIV-1 isolates. The HEC/Fiocruz AIDS Clinical Research Group. *Scand J Immunol* 47: 603-608.
- Bongertz V, Costa CI, Santos VGV, João Filho EC, Galvão-Castro B, Morgado MG, and the Hospital Evandro Chagas AIDS Clinical Res Group 1997. Correlation between susceptibility of primary HIV-1 isolates to autologous and heterologous neutralizing antibodies. *AIDS* 11: 969-975.
- Brander C, and Walker BD 1999. T lymphocyte responses in HIV-1 infection: implications for vaccine development. *Curr Opin Immunol* 11: 451-459.
- Brazilian Network for the HIV-1 Isolation and Characterization (Bongertz V, Bou-Habib DC, Brígido LFM, Caseiro M, Couto-Fernandez JC, Ferreira PC, Freitas CO, Galvão-Castro B, Greco D, Guimarães ML, Linhares de Carvalho MI, Morgado MG, Oliveira CAF, Osmanov S, Ramos CA, Rossini M, Sabino E, Tanuri A, Ueda M 2000. HIV-1 diversity in Brazil: genetic, biological and immunological characterization of HIV-1 strains in three potential HIV vaccine evaluation sites. *J Acquir Immune Defic Syndr* 23: 184-193.
- Campodonico M, Janssens W, Heyndrickx L, Fransen K, Leonaers A, Fay FF, Taborda M, Van der Groen G, Fay OH 1996. HIV type 1 subtypes in Argentina and genetic heterogeneity of the V3 region. *AIDS Res Hum Retroviruses* 12: 79-81.
- Cao H, Mani I, Vincent R, Mugerwa R, Mugenyi P, Kanki P, Ellner J, Walker BD 2000. Cellular immunity to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) clades: relevance to HIV-1 vaccine trials in Uganda. *J Infect Dis* 182: 1350-1356.
- Cao H, Kanki P, Sankalé J-L, Dieng-Sarr A, Mazzara GP, Kalams SA, Korber B, Mboup S, Walker BD 1997. Cytotoxic T-lymphocyte cross-reactivity among different Human Immunodeficiency virus type 1 clades: Implications for vaccine development. *J Virol* 71: 8615-8623.
- Caride E, Brindeiro R, Hertogs K, Larder B, Dehertogh P, Machado E, Sá CA, Eyer-Silva WA, Sion FS, Passioni LF, Menezes JA, Calazans A, Tanuri A 2001. Drug-resistant reverse transcriptase genotyping and phenotyping B and non-B subtypes (F and A) of human immunodeficiency virus type 1 found in Brazilian patients falling HAART. *Virology* 275: 107-115.
- Carr JK, Avila M, Carrillo MG, Salomon H, Hierholzer J, Watanaveeradej V, Pando MA, Negrete M, Russell KL, Sanchez J, Bix DL, Andrade R, Vinales J, McCutchan FE 2001. Diverse BF recombinants have spread widely since the introduction of HIV-1 into South America. *AIDS* 15: F41-F47.
- Casseb J, Hong MA, Gonzalez C, Brígido LF, Duarte AJ, Michael-Hendry R 1998. Two variants of HIV-1 B serotype are transmitted heterosexually in São Paulo, Brazil. *Braz J Med Biol Res* 31: 1243-1246.
- Castro E, Echeverría G, Deibis L, Gonzalez de Salmen B, Dos Santos Moreira A, Guimarães ML, Bastos FI, Morgado MG 2003. Molecular epidemiology of HIV-1 in Venezuela: high prevalence of HIV-1 subtype B and identification of a B/F recombinant infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 32:338-44.
- Castro E, Echeverría G, Deibis L, Gonzales B, Moreira AS, Morgado MG 2001. Subtype and phylogenetics analysis of HIV-1 isolates from Venezuela. The first IAS Conference on HIV pathogenesis and treatments, Buenos Aires, Argentina, July 2001.
- Cornelissen M, Kampinga G, Zorgdrager F, Goudsmit J, the UNAIDS network for HIV isolation and characterization 1996. Human immunodeficiency virus type 1 subtypes defined by env show high frequency of recombination gag genes. *J Virol* 70: 8209-8212.
- Couto-Fernandez JC, Morgado MG, Bongertz V, Tanuri A, Andrade T, Brites C, Galvão-Castro B 1999. HIV-1 subtyping in Salvador, Bahia, Brazil: a city with African sociodemographic characteristics. *J Acquir Immune Defic Syndr* 22: 288-2893.
- Covas DT, Biscaro TA, Kashima S, Duarte G, Machado AA 1998. High frequency of the GWG (Pro Trp) envelope variant of HIV-1 in Southeast Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 19: 74-99.
- Delgado E, Thomson MM, Villahermosa ML, et al., 2002. Identification of a newly characterized HIV-1 BG intersubtype recombinant viruses circulating recombinant form in Galicia, Spain, which exhibits a pseudotype-like virion structure. *J Acquir Immune Defic Syndr* 29:536-543.
- Delgado E, Leon-Ponte M, Villahermosa ML, Cuevas MT, Deibis L, Echeverría G, Thomson MM, Perez-Alvarez L, Osmanov S, Najera R 2001. Analysis of HIV type 1 protease and reverse transcriptase sequences from Venezuela for drug resistance-associated mutations and subtype classification: a UNAIDS study. *AIDS Res Hum Retroviruses* 17: 753-758.
- Desgranges C, Fillon S, Letouneur F, Buzelay L, Sepulveda C, Guzman M-A, Afani A, Barin F, Saragosti S 1998. HIV-1 subtypes in Santiago, Chile. *AIDS* 12: 1563-1565.
- Dolin R, Graham BS, Greenberg SB, Tacket CO, Belshe RB, Midthun K, Clements ML, Gorse GJ, Horgan BW, Atmar RL 1991. The safety and immunogenicity of a human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) recombinant gp160 candidate vaccine in humans. NIAID AIDS Vaccine Clinical Trials Network. *Ann Intern Med* 114: 119-127.
- Duque V, Holguin A, Silvestre M, González-Lahoz J, Soriano V 2003. HIV type 1 recombinant B/G subtypes circulating in Coimbra, Portugal. *Clin Microbiol Infect* 9:422-425.
- Esparza J, and Bhamarapravati N 2000. Accelerating the development and future availability of HIV-1 vaccines: Why, when, where and how? *The Lancet* 355: 2061-2066.
- Esteves A, Parreira R, Venenno T, et al., 2002. Molecular epidemiology of HIV type 1 infection in Portugal:



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

Variabilidad genética del virus
de la inmunodeficiencia
humana (VIH): importancia
en el desarrollo de vacunas

- high prevalence of non-B subtypes. *AIDS Res Hum Retroviruses* 18:313-325.
29. Fernández-Medina D, Jansson M, Rabinovich RD, Libonatti O, Wigzell H 1999. Identification of human immunodeficiency virus type 1 subtypes B and F B/F recombinant and dual infection with these subtypes in Argentina. *Scand J Infect Dis* 31: 235-242.
30. Ferrari G, Humphrey W, McElrath MJ, Excler JL, Duliege AM, Clements ML, Corey LC, Bolognesi DP, Weinhold KJ 1997. Clade B-based HIV-1 vaccines elicit cross-clade cytotoxic T lymphocyte reactivities in uninfected volunteers. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 1396-1401.
31. Francis DP, Gregory T, McElrath MJ, Belshe RB, Gorse GJ, Migasena S, Kitayaporn D, Pitisuttitham P, Matthews T, Schwartz DH, Berman PW 1998. Advancing AIDSVAX to phase 3. Safety, immunogenicity, and plans for phase 3. *AIDS Res Hum Retroviruses* 14 (Suppl. 3): S325-331.
32. Galvão-Castro B, Couto-Fernandez JC, Mello MA, Linhares-de-Carvalho MI, Castello-Branco LR, Bongertz V, Ferreira PC, Morgado M, Sabino E, Tanuri A 1996. A nationwide effort to systematically monitoring HIV-1 diversity in Brazil: preliminary results. Brazilian Network for the HIV-1 Isolation and Characterization. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 91: 335-338.
33. Gao F, Yue L, White AT, et al., 1992. Human infection by genetically-diverse SIVsm-related HIV-2 in West Africa. *Nature* 358: 495-499.
34. Gao F, Bailes E, Robertson DL et al. 1999. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes* troglodytes. *Nature* 397: 436-441.
35. Gao F, Robertson DL, Morrison SG, Hui H, Craig S, Decker J, Fultz PN, Girard M, Shaw GM, Hahn BH, Sharp PM 1996. The heterosexual human immunodeficiency virus type 1 epidemic in Thailand is caused by an intersubtype (A/E) recombinant of African origin. *J Virol* 70: 7013-7029.
36. Guimarães M, Moreira A, Morgado M 2001. Molecular characterization of CTL epitopes among prevalent Brazilian HIV-1 subtypes. *AIDS Vaccine* 2001, Philadelphia, PA, USA, abstract 261.
37. Hahn B, Shaw G, De Cock, Sharp P 2000. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science* 287: 607-614.
38. Hammer M 2002. Increasing choices for HIV therapy. *N Engl J Med* 346:2022-2023.
39. Hendry RM, Hanson CV, Bongertz V, Morgado M, Duarte A, Casseb J, Brígido L, Sabino E, Diaz R, Galvão-Castro B 1996. Immunoreactivity of Brazilian HIV isolates with different V3 motifs. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 91: 347-348.
40. Hirsch V, Olmsted R, Murphey-Corb M, Purcell, Johnson P 1989. An African primate lentivirus (SIVsm) closely related to HIV-2. *Nature* 339: 389-392.
41. HIV Molecular Immunology Database 2000. In BTM Korber, C Brander, BF Haynes, R Koup, C Kuiken, JP Moore, BD Walker, D Watkins (Eds.), Los Alamos National Laboratory: Theoretical Biology and Biophysics, Los Alamos, NM.
42. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 373: 123-126.
43. Hoelscher M, Kim B, Maboko L, et al., 2001. High proportion of unrelated HIV-1 intersubtype recombinants in the Mbeya region of southwest Tanzania. *AIDS* 15:1461-1470.
44. Hu WS, Temin HM 1990. Retroviral recombination and reverse transcription. *Science* 250: 1227-1233.
45. Janini LM, Pieniazek D, Peralta JM, Schechter M, Tanuri A, Vicente AC, dela Torre N, Pieniazek NJ, Luo CC, Kalish ML, Schochetman G, Rayfield MA 1996. Identification of single and dual infections with distinct subtypes of human immunodeficiency virus type 1 by using restriction fragment length polymorphism analysis. *Virus Genes* 13: 69-81.
46. Janini LM, Tanuri A, Schechter M, Peralta JM, Vicente AC, Dela Torre N, Pieniazek NJ, Luo CC, Ramos A, Soriano V, Schochetman G, Rayfield MA, Pieniazek D 1998. Horizontal and vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1 dual infections caused by viruses of subtypes B and C. *J Infect Dis* 177: 227-231.
47. Jin X, Bauer DE, Tuttleton SE, Lewin S, Gettie A, Blanchard J, Irwin CE, Safrit JT, Mittler J, Weinberger L, Kostrikis LG, Zhang L, Perelson AS, Ho DD 1999. Dramatic rise in plasma viremia after CD8 (+) T cell depletion in simian immunodeficiency virus-infected macaques. *J Exp Med* 189: 991-998.
48. Kalish M, Baldwin A, Raktham S, et al., 1995. The evolving molecular epidemiology of HIV-1 envelope subtypes in injecting drug users in Bangkok, Thailand: implications for HIV vaccine trials. *AIDS* 9:851-857.
49. Kazanji M, Lavergne A, Pouliquen J-F, Magnien C, Bisuel F, Marty C, Couppie P, Talarmin A 2001. Genetic diversity and phylogenetic analysis of human immunodeficiency virus type 1 subtypes circulating in French Guiana. *AIDS Res Hum Retrovirus* 17: 857-861.
50. Klein MR, van Baalen CA, Holwerda AM, Kerkhof Garde SR, Bende RJ, Keet IP, Eeftink-Schattenkerk JK, Osterhaus AD, Schuitemaker H, Miedema F 1995. Kinetics of Gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection: a longitudinal analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics. *J Exp Med* 181: 1365-1372.
51. Kuiken C, Thalallapalli R, Esklid A, De Ronde 2000. Genetic analysis reveals epidemiologic patterns in the spread of HIV. *Am J Epidemiol* 152: 814-822.
52. Lukashov V, Cornelissen M, Goudsmit J, et al., 1995. Simultaneous introduction of distinct HIV-1 subtypes into different six groups in Russia, Byelorussia and Lithuania. *AIDS* 9:435-439.
53. Magiorkinis G, Paraskevis D, Magiorkinis E, Bañadme A, Hatzakis A 2002. Reanalysis of the HIV-1 circulating recombinant form A/E (CRF01_AE): evidence of A/E/G recombination. *J Acquir Immune Defic Syndr* 30:124-129.
54. Marquina S, Leitner T, Rabinovich RD, Benetucci, Libonatti O, Albert J 1996. Coexistence of subtype B, F and B/F env recombinant of HIV type 1 in Buenos Aires, Argentina. *AIDS Res Hum Retroviruses* 12: 1651-1654.
55. Mascola JR, Louder MK, Surman SR, Vancott TC, Yu XF, Bradac J, Porter KR, Nelson KE, Girard M, McNeil JG, McCutchan FE, Birx DL, Burke DS 1996. Human immunodeficiency virus type 1 neutralizing antibody serotyping using serum pools and an infectivity reduction assay. *AIDS Res Hum Retroviruses* 12: 1319-1328.
56. McAdam S, Kaleebu P, Krausa P, Goulder P, French N, Collin B, Blanchard T, Whitworth J, McMichael A, Gotch F 1998. Cross-clade recognition of p55 by cytotoxic T lymphocytes in HIV-1 infection. *AIDS* 12: 571-579.
57. Moore JP, Parren PW, Burton DR 2001. Genetic subtypes, humoral immunity, and human immunodeficiency virus type 1 vaccine development. *J Virol* 75: 5721-5729.
58. Morgado MG, Guimarães ML, Galvão-Castro B 2002. HIV-1 polymorphisms: a challenge for vaccine development- A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97:143-150.
59. Morgado MG, Guimarães ML, Gripp CBG, Neves Jr I, Costa CI, Santos VGV, Linhares-de-Carvalho MI, Galvão-Castro B, Bongertz V, The Hospital Evandro Chagas AIDS Clinical Research Group 1998a. High prevalence of HIV-1 subtype B and identification of an HIV-1 subtype D infection in the City of Rio de Janeiro, Brazil. *J AIDS Hum Retroviruses* 18: 488-494.
60. Morgado MG, Guimarães ML, Neves Jr I, Costa CI, Santos VGV, Linhares-de-Carvalho MI, Galvão-Castro B, Bongertz V 1996. Polymorphism of the predictive antigenic sites on the V3 loop of Brazilian HIV-1 subtype strains. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 91: 339-342.
61. Morgado MG, Guimarães ML, Neves Jr I, Veloso VG, Linhares-de-Carvalho MI, Castello-Branco LR, Bastos FI, Castilho EA, Galvão-Castro B, Bongertz V, The Hospital Evandro Chagas AIDS Clinical Research Group 1998b. Polymorphism of the antigenically distinct HIV-1 B subtype strains. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 383-386.

62. Morgado MG, Sabino EC, Shpaer EG, Bongertz V, Brigido L, Guimarães MDC, Castilho EA, Galvão-Castro B, Mullins JL, Hendry RM, Mayer A 1994. V3 region polymorphism in HIV-1 from Brazil: Prevalence of subtype B strains divergent from the North American/European prototype and detection of subtype F. *AIDS Res Hum Retroviruses* 10: 569-575.
63. Mulligan MJ and Weber J 1999. Human trials of HIV-1 vaccines. *AIDS* 13 (Suppl. A): S105-112.
64. Musey L, Hughes J, Schacker T, Shea T, Corey L, McElrath MJ 1997. Cytotoxic-T-cell responses, viral load, and disease progression in early human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 337: 1267-1274.
65. Navas M-A, Letourneur F, Gomas E, Boshell J, Saragosti S 1999. Analysis of the V3 loop sequences from 12 HIV type 1-infected patients from Colombia, South America. *AIDS Res Hum Retroviruses* 15: 1141-1144.
66. Novitsky V, Rybak N, McLane MF, Gilbert P, Chigwedere P, Klein I, Gaolekwe S, Chang SY, Peter T, Thior I, Ndung'u T, Vannberg F, Foley BT, Marlink R, Lee TH, Essex M 2001. Identification of human immunodeficiency virus type 1 subtype C Gag-, Tat-, Rev-, and Nef-specific elispot-based cytotoxic T-lymphocyte responses for AIDS vaccine design. *J Virol* 75: 9210-9228.
67. Osmanov S, Pattou Walker N, Schwarlander B, Esparza J 2002. Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtypes in the year 2000. *J Acquir Immune Defic Syndr* 29N184-190.
68. Palella F, Delaney K, Moorman A, et al., 1998. Declining morbidity and mortality among patients with advanced HIV infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 338:853-860.
69. Peeters M, Liegeois F, Torimiro N, et al., 1999. Characterization of a highly replicative intergroup M/O recombinant HIV-1 virus isolated from Cameroonian patient. *J Virol* 73:7368-7375.
70. Perrin L, Kaiser L, Yeray S 2003. Travel and the spread of HIV-1 genetic variants. *Lancet Infect Dis* 3: 22-27.
71. Potts KE, Kalish ML, Lott T, Orloff G, Luo CC, Bernard MA, Alves CB, Badaro R, Suleiman J, Ferreira O, and the Brazilian Collaborative AIDS Research Group 1993. Genetic heterogeneity of the V3 region of the HIV-1 envelope glycoprotein in Brazil. *AIDS* 7: 1191-1197.
72. Quiñones-Mateu M, Arts EJ 1999. Recombination in HIV-1: update and implications. *AIDS Rev* 1:89-100.
73. Preston BD, Poiesz BJ, Loeb LA 1988. Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase. *Science* 242: 1168-1171.
74. Ramos A, Nguyen L, Hu D, et al., 2003. New HIV type 1 CRF01_AE-B recombinants displaying unique distribution of breakpoints from incident infections among injecting drug users in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses* 19:667-674.
75. Ramos A, Tanuri A, Schechter M, Rayfiel MA, Hu DJ, Cabral MC, Bandea CI, Baggs J, Pieniazek D 1999. Dual and recombinant infections: an integral part of the HIV-1 epidemic in Brazil. *Emerg Infect Dis* 5: 65-74.
76. Rinke de Wit T, Tsegaye A, Wolday D, et al., 2002. Primary HIV-1 subtype C infection in Ethiopia. *J Acquir Immune Defic Syndr* 30:463-470.
77. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA et al., 2000. HIV-1 nomenclature proposal. *Science* 288: 55-56.
78. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA et al., 1999. HIV-1 nomenclature proposal. Human retroviruses and AIDS 1999: a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. In: Kuiken CL, Foley B, Hahn B, Korber B, McCutchan F, Marx PA, et al., Eds. *Theoretical Biology and Biophysics Group*. Los Alamos, NM: Los Alamos National Laboratory.
79. Russel KL, Carcamo C, Watts DM, Sanchez J, Gotuzzo E, Euler A, Blanco JC, Galeano A, Alava A, Mullins JL, Holmes KK, Carr JK 2000. Emerging genetic diversity of HIV-1 in South America. *AIDS* 14: 1785-1791.
80. Sabino E, Shpaer E, Morgado MG, Kober BT, Diaz RS, Bongertz V, Cavalcante S, Galvão-Castro B, Mullins JL, Mayer A 1994. Identification of an HIV-1 proviral genome recombinant between subtype B and F in PBMCs obtained from an individual in Brazil. *J Virol* 68: 6340-6346.
81. Sánchez-Merino V, Herrero C, Amorin-Nink A, Von Briesen H, López-Galíndez C 2003. Genetic analysis of culture-negative UNAIDS subtype C samples. *AIDS Res Hum Retroviruses* 19:49-55.
82. Schmitz JE, Kuroda MJ, Santra S, Sasseville VG, Simon MA, Lifton MA, Racz P, Tenner-Racz K, Dalesandro M, Scallan BJ, Ghrayeb J, Forman MA, Montefiori DC, Rieber EP, Letvin NL, Reimann KA 1999. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes. *Science* 283(5403): 857-860.
83. Stefani MM, Pereira GA, Martelli CM, Shindo N, Galvão-Castro B 2000. Evidence of HIV-1 genetic diversity among pregnant women with AIDS or infected with HIV-1 in Central Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr* 23: 205-207.
84. Subbarao S, Vanichseni S, Hu D, et al., 2000. Genetic characterization of incident HIV type 1 subtype E and B strains from a prospective cohort in injecting drug users in Bangkok, Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses* 16:699-707.
85. Swanson P, Devare S, Hackett J 2003. Full-length sequence analyses of HIV-1 isolate CM237: a CRF01_AE/B intersubtype recombinant from Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses* 19:707-712.
86. Tanuri A, Swanson P, Devare S, Berro O, Savedra A, Costa LJ, Telles JG, Brindeiro R, Schable C, Pieniazek D, Rayfield M 1999. HIV-1 subtypes among blood donors from Rio de Janeiro, Brazil. *J Acq Immune Defic Syndr Hum Retr* 20: 60-66.
87. Thomson MM, Pérez-Álvarez L, Nájera R 2002. Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy. *Lancet Infect Dis* 2:461-471.
88. Thomson M, Delgado E, Herrero I, et al., 2002. Diversity of mosaic structures and common ancestry of HIV type 1 BF intersubtype recombinant viruses from Argentina revealed by analysis of near full-length genome sequences. *J Gen Virol* 83:107-119.
89. Thomson M, Delgado E, Manjon N, et al., 2001. HIV-1 genetic diversity in Galicia, Spain: BG intersubtype recombinant viruses circulating among injecting drug users. *AIDS* 15:509-516.
90. Thomson M, Villahermosa M, Vázquez-de-Parra E, et al., 2000. Widespread circulation of a B/F intersubtype recombinant form among HIV-1 infected individuals in Buenos Aires, Argentina. *AIDS* 14:897-899.
91. Valer L, De Mendoza C, Soriano V 2003. HIV superinfection: clinical and biological implications. *Med Clin (Barcelona)* 121:192-196.
92. Velarde-Dunois KG, Guimarães M L, La Fuente C, Andrade R, Arévalo R, Pantoja S, Mariscal R, Sandoval R, Iriarte F, Chamón V, Melgar M, Carvajal R, Morgado MG 2000. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type-1 infected individuals from Bolivia reveals the presence of two distinct genetic subtypes B and F. *AIDS Res Hum Retroviruses* 16: 1921-1926.
93. Triques K, Burgeois A, Saragosti S, et al., 1999. High diversity of HIV-1 subtype F strains in Central Africa. *Virology* 259:99-109.
94. Vicente ACP, Otsuki K, Silva NB, Castilho MC, Barros FS, Pieniazek D, Hu D, Rayfield MA, Bretas G, Tanuri A 2000. The HIV epidemic in the Amazon basin is driven by prototypic and recombinant HIV-1 subtypes B and F. *J AIDS* 23: 327-331.
95. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al., 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 373: 117-122.
96. WHO Network for HIV Isolation and Characterization 1994. HIV-1 type 1 variation in World Health Organization-sponsored vaccine evaluation sites: Genetic screening, sequence analysis and preliminary biological characterization of selected viral strains. *AIDS Res Hum Retroviruses* 10: 1327-1343.
97. WHO/UNAIDS Report 2001. Future access to HIV vaccines. *AIDS* 15: W27-44.
98. Yang R, Xia X, Kusagawa S, Zhang C, Ben K, Takebe Y 2002. Ongoing generation of multiple forms of HIV-1 intersubtype recombinants in the Yunnan Province of China. *AIDS* 16:1401-1407.
99. Zewde A, Bahiru S, Sanders E, et al., HIV-1 seroprevalence and subtypes in police from Afar regional State, Ethiopia. *Ethiop Med J* 40(Suppl 1):1-10.

BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXPANDIDO AISLADAS EN MUESTRAS DE SANGRE Y LÍQUIDO CEFALORRAQUIDEO EN PACIENTES DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CARACAS. Año 2004.

Dr. Narlesky Rivero; Dra. Luz Flores; Dra. Evelyns Villarroel; Dra. Miriam Bastidas; Dr. RE Andrade
Departamento de Bioanálisis. Sección de Bacteriología. Hospital Universitario de Caracas.

RESUMEN

Las B-Lactamasas de espectro expandido (BLEE), son un grupo de enzimas de codificación plasmídica derivadas de las TEM-1,2 y SHV-1, capaces de hidrolizar los antibióticos betalactámicos, específicamente cefalosporinas de tercera generación y al monobactam. Inicialmente fueron detectadas en aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* hoy día se han encontrado en una gran variedad de enterobacterias, lo cual constituye un problema para el clínico al momento de iniciar una terapia antimicrobiana. Se han aislados con mayor frecuencia en muestras procedentes de pacientes hospitalizados, pero también pueden encontrarse en muestras de origen comunitario. Por ser un tipo de resistencia de codificación plasmídica hace que sea transferible fácilmente por mecanismos de conjugación entre diferentes especies bacterianas^{4,5}. El laboratorio de bacteriología juega un papel muy importante en la detección de estos aislamientos y posibles brotes nosocomiales, ya que la detección precoz de las mismas es importante para comenzar el tratamiento adecuado. Existen varias técnicas para detectar en el laboratorio este tipo de enzimas siendo la empleada por nosotros en el laboratorio de Bacteriología del Hospital Universitario de Caracas, la técnica de doble difusión con discos, en la cual se observa una ampliación del halo de inhibición en las cefalosporinas y el aztreonam con respecto al disco de amoxicilina/ácido clavulánico, si en la bacteria está presente dicha enzima². En este estudio se determina cual es la incidencia de las BLEE en muestras de Sangre y LCR, en pacientes con mal pronóstico de vida.

PALABRAS CLAVES: BLEE, PLÁSMIDOS, CONJUGACIÓN, SANGRE, LCR.

SUMMARY

The extended spectrum B-lactamases (ESBLs) are a group of enzymes of plasmid code derivated from de TEM-1,2 and SHV-1 capable of hydrolyze the betalactam antibiotics, specifically cephalosporins from third generation and the monobactam too. Originally were detected in clinical isolations of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. Actually they have been found in a great variety of Enterobacteriaceae which constitute a problem for the physician at the moment of beginning an antimicrobial therapy. They have been isolated more frequently in streins from hospitalized patients, but also they can be found in streins of communitary source. Due to it is a kind of resistance of plasmid code, it makes possible it can be transferred easily by mechanisms of conjugation among different bacterial specimens^{4,5}. The laboratory of bacteriology has a very important role in the detection of these isolations and possible outbreaks nosocomial, since the precocious detection of these stubs is vital to begin the adecuated treatment. There exist several techniques to detec this type of enzymes, the techniques employed by us in the of bacteriology at the University Hospital of Caracas, is called Double- Disk diffudion in wich is observed an enhancement of the zone of the cephalosporins and the aztreonam, with respect to the disk of amoxicillin/clavulanic acid, it is interpreted as positive². In this investigation it was determined the incidence of the ESBLs in the sample of blood and CFS in patiens with a bad prediction of life.

KEY WORDS: ESBLs, PLASMID, CONJUGATION, BLOOD, CFS.

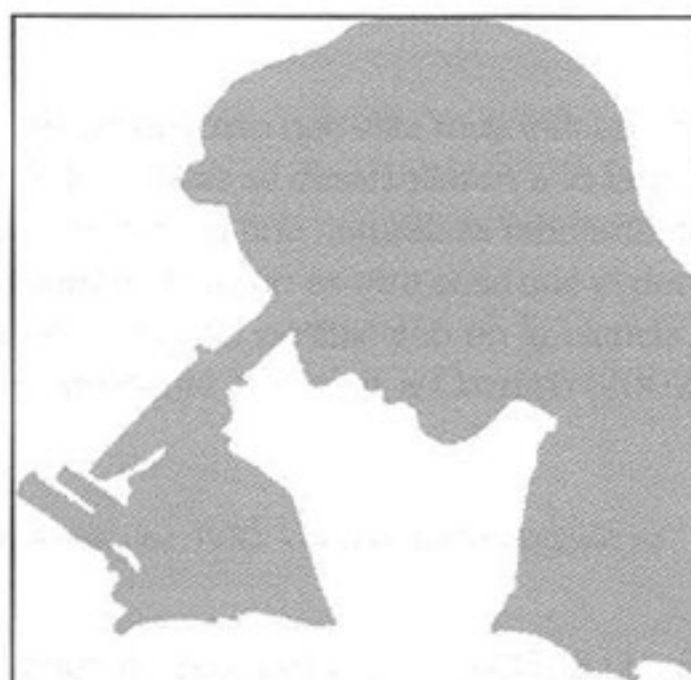
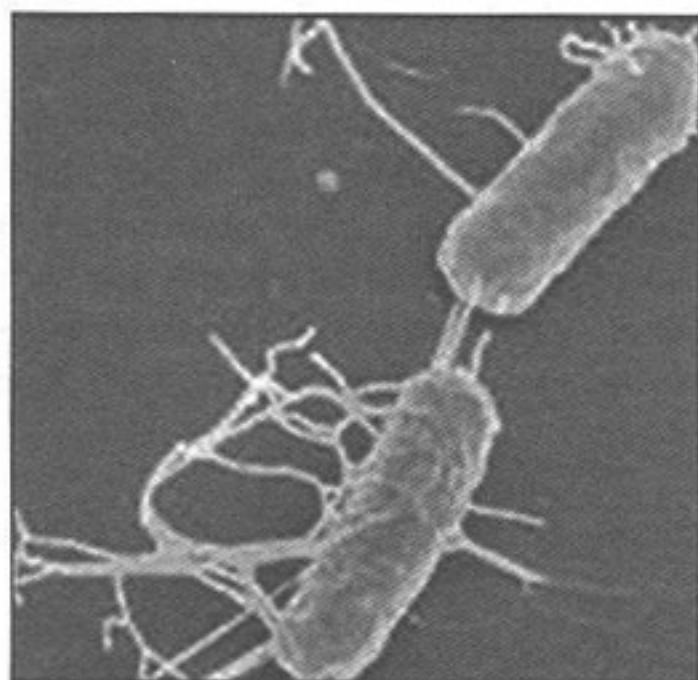
INTRODUCCION

Existen muchos mecanismos de protección que implementan las bacterias en un momento determinado contra ciertos agentes que podrían causarle la muerte, como es el caso de los antibióticos. En este caso hacemos referencia a los mecanismos de resistencia a los *B*-lactámicos, en el cual se puede atribuir a: 1) inactivación de la droga, 2) alteración del sitio blanco, 3) bloqueo del transporte de la droga al interior de la célula. Siendo el más importante el número uno, como mecanismo de resistencia en cepas bacterianas en donde el fenotipo de resistencia a *B*-lactámicos es conferido por una o varias enzimas simultáneamente o no, las cuales abren el anillo *B*-lactámico para formar compuestos inactivos. Son las llamadas *B*-lactamasas que se encuentran tanto en los microorganismos grampositivos como en los gramnegativos y son responsables de muchas cepas altamente resistentes³. Se describe a las enzimas procedentes de los microorganismos gramnegativos específicamente a las *B*-Lactamasas de Espectro Expandido (BLEE), cuyo origen proviene de mutaciones en genes que codifican *B*-lactamasas plasmídicas tales como TEM-1,2 y SHV-1(1,4,5). Pueden conferir resistencia a cefotaxime, ceftazidima, aztreonam, penicilinas de espectro extendido y *B*-lactámicos estructuralmente relacionados en aislamientos clínicos de *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* y algunos otros géneros de la familia Enterobacteriaceae (*Proteus*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Morganella*, etc.) (4,5). La resistencia se produce no solo por mutación de los genes microbianos que codifican la entrada de antibiótico a las células, o los lugares de unión de un antibiótico, sino principalmente por la adquisición de genes, a partir de fuentes exógenas que confieren resistencia heteróloga. Este mecanismo es controlado por elementos ex-

tracromosomales que son los llamados plásmidos (pequeñas moléculas de ADN extracromosómico, no esenciales para la célula que pueden perderse sin producir alteración celular, cuyas propiedades más importantes desde el punto de vista médico son la resistencia a los antibióticos entre otros). El intercambio de información genética entre las bacterias puede ocurrir por mecanismos de conjugación, donde hay transferencia de ADN desde una célula donante a una receptora, por contacto físico entre dos células^{1,3}.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron muestras de Sangre y Líquido Cefalorraquídeo (LCR), procedentes de pacientes ingresados al Hospital Universitario de Caracas (HUC), durante los meses de Enero- Agosto del año 2004. Se cultivaron e identificaron por metodología manual implementada por el laboratorio de Bacteriología, siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Americana de Microbiología². Se aislaron en total 30 cepas de Enterobacterias (25 en sangre, 5 en LCR), se les realizó las pruebas de sensibilidad a los antibióticos (descrita por Bauer y Kirby), específicamente la técnica de la doble difusión con discos². Se realiza por difusión en agar Mueller-Hinton inoculada con una suspensión bacteriana ajustada al patrón de 0,5 de la escala de McFarland, se colocaron discos con cargas estándar (30 mg) de cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxone y aztreonam, dispuestos a una distancia de 25-30 mm del disco de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 mg). Se observó alargamiento o ampliación de los halos de inhibición en algunos de los antibióticos nombrados lo cual se considera el test positivo y la probable cepa productora de BLEE^{2,4,5}.





RESULTADOS

De las Enterobacterias aisladas se identificaron 23 cepas de *Klebsiella pneumoniae*, 4 de *Enterobacter cloacae* y 3 de *Enterobacter aerogenes*. Resaltando que 19 de los casos fueron bacterias aisladas en la Unidad de Cuidados Intermedios Neonatal (UCIN), con impresión diagnóstica de sepsis y meningitis bacteriana. También fueron significativos los 6 aislamientos obtenidos en el servicio de Terapia Intensiva (UTI), cuyos pacientes están sometidos a una gran variedad de antibiótico-terapia siendo pacientes inmunocomprometidos, con buena predisposición para ser colonizados e infectados por este tipo bacteriano.

DISCUSION

Definitivamente la investigación en el laboratorio de Microbiología de este tipo de enzimas que son capaces de inactivar a un grupo de antibióticos como en este caso a los B-lactámicos, juega un papel primordial en la selección del fármaco adecuado para tratar un proceso infeccioso de-

terminado. Sabiendo que pacientes que presentan diagnósticos de sepsis y meningitis en donde las posibilidades de sobrevivir son pocas, se quiso resaltar la importancia de los aislamientos de Enterobacterias productoras de BLEE en muestras de Sangre y LCR. Por lo tanto el laboratorio de Microbiología debe estar alerta en la detección de éstos microorganismos multirresistentes, por lo que éstas enzimas han demostrado ser clínicamente importantes ya que varios investigadores demostraron fallas en el tratamiento cuando eran aplicados a los pacientes antibióticos B-lactámicos, específicamente cefalosporinas de tercera generación en infecciones serias^{1,3,4}. La importancia en la detección de éstas enzimas radica entre otras cosas en que un error en la interpretación del antibiograma llevaría a una mortalidad de 44% o más^{4,5}. Las BLEE son actualmente un reto Diagnóstico y Terapéutico llevando a la buena interacción Médico-Laboratorio, en donde se ayuda a escoger un buen tratamiento y un uso racional de los antibióticos^{4,5}.

REFERENCIAS

1. Torres L. Interpretaciones de relevancia en el antibiograma de los Gram negativos. Boletín Informativo N° 1 Año 2004. Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas.
2. Performance Standards for antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Stand. Eighth Edition. Volumen 23. Number 1. NCCLS Document M2 A8 January 2003.
3. Murray P.R, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover R.H. Mechanismos of Resistance to Antimicrobial Agents. Manual of Clinical Microbiology. 7th Edition. 1999;117:1505-10.
4. Bus K, Jacoby GA, Medeiros AA. A Functional classification scheme for B-lactamasas and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39: 1211-1233.
5. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum B-lactamasas. Antimicrob Agents. Chemother 1991;35:1697-1704.



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

Beta-lactamasas de espectro
expandido aisladas en muestras
de sangre y líquido
cefalorraquídeo en pacientes
del hospital universitario
de Caracas. Año 2004.

LA OCCIDENTALIZADA CIENCIA MODERNA EN CONTRAPOSICIÓN DE LA TRADICIONAL CIENCIA ANTIGUA

(THE MODERN WESTERNALIZED SCIENCE IN CONTRAPOSITION
TO THE ANCIENT TRADITIONAL SCIENCE)

A CIÊNCIA MODERNA DE OCCIDENTAL NO CONTRASTE À CIÊNCIA TRADICIONAL ANTIGA

Dr. Harold P. de Vladar
Instituto de Estudios Avanzados (IDEA)

RESUMEN

Las distintas perspectivas que se plantean entre las finalidades científicas de las civilizaciones antiguas y las modernas se contraponen de una manera tal, que aun cuando los fenómenos a estudiarse pueden ser los mismos, los objetivos y las conclusiones pueden ser totalmente contrarias. Esto solo es producto de tal contraposición, y más aún, se puede llegar a proponer que la finalidad de la ciencia hoy día no se vincula con la necesidad de construir principios generales, sino de describir el detalle de los fenómenos, aún cuando al hacer esto se oculte la naturaleza generalizada de los procesos.

PALABRAS CLAVE: CIENCIA MODERNA; CIENCIA TRADICIONAL; OCCIDENTALIZACIÓN CULTURAL.

ABSTRACT

The different perspectives that are stated between the scientific purposes of the old civilizations and the modern ones oppose in way, that even though the phenomena under study are the same, the objectives and the conclusions can be totally opposite. This is no more than the product of such contrast. Still more, it can be gotten to propose that the purpose of science nowadays does not necessarily tie with the need to construct general principles, but to describe the detail of the phenomena, even though when doing this hides the generalized nature of those processes.

KEYWORDS: MODERN SCIENCE; TRADITIONAL SCIENCE; CULTURAL WESTERNIZATION.

1. La Ciencia y Los Puntos de Vista

El desarrollo de los conocimientos a través del tiempo, es un proceso que esta muy influenciado por las necesidades sociales e intereses políticos. Desde varios puntos de vista, algunos de los cuales se desarrollaran a lo largo de este ensayo, se puede interpretar que el conocimiento científico y el desarrollo tecnológico no tienen una naturaleza fundamentalista científica. Más bien se evidencia la practicidad que subyace detrás de los desarrollos e inventos. Esto no es otra cosa que el denominado positivismo. El enfoque que aquí se quiere desarrollar no es precisamente el de la polémica del positivismo en la ciencia, sino el de las raíces epistemológicas de la ciencia. Para una discusión sobre positivismo, es pertinente consultar a Cornejo (2002). Desde un punto de vista particular,

* Lic. en Biología, UCV 1999. - E.G. Maestría en Modelos Aleatorios, IVIC. - e-mail: haperez@ivic.ve

a decir el de sociedades antiguas, la ciencia ha experimentado a través del tiempo un proceso de degeneración. La palabra degeneración puede entenderse de varias maneras. En este trabajo, nos enfocaremos en un aspecto particular. Si definimos como finalidad de la explicación científica englobar a los fenómenos observables en fenómenos metafísicos y universales, entonces entenderemos por degeneración la pérdida de tal finalidad.

Establecer un punto de vista a la antigua es aludir directamente al carácter científico de las sociedades antiguas, el cual de por sí puede ser un poco oscuro a ojos de un científico moderno; pero a fin de cuentas, el enfoque que aquí queremos plantear no tiene como finalidad satisfacer mentes "cegadas" a un pensamiento contemporáneo, pues desde una entrada inmediata, podemos reconocer el carácter metafísico y esotérico que era muy frecuente en esas sociedades, y que de por sí hoy día ha degenerado a otras formas superficiales de creencias supersticiosas y desvinculadas al entendimiento de la naturaleza humana. Los argumentos para esto, ya han sido ampliamente discutidos y están completamente fuera del objetivo de este trabajo. Sin embargo, se puede consultar a Guénon (1976).

2. Sobre los Orígenes de la Ciencia o De la Metodología de la Ciencia Tradicional

La posición que hoy día se toma ante la ciencia, principalmente por los científicos, pretende ser escéptica y abierta a cualquier posibilidad. Esto es en la práctica es falso. En realidad los científicos no pueden aceptar enfoques o teorías que tomen como base algún aspecto que tenga alguna aparente ambigüedad en su naturaleza. Esto no es necesariamente malo (de nuevo, puede ser malo o bueno depende de la posición que se quiera adoptar), es solo una característica que diferencia a la ciencia moderna de la ciencia, digamos, tradicional.

Tal vez la diferencia mas marcada entre la ciencia tradicional y la ciencia moderna es que la primera considera a los fenómenos observables como una extensión de algo más general y que está englobado por la metafísica. La segunda, descarta completamente cualquier relación con lo no comprobable o no medible. Aquí, se puede encontrar un punto importante, que se relaciona con la objetividad y la comprobabilidad de un fenómeno. Siendo la ciencia (tradicional) una extensión de la metafísica, esta está vinculada íntimamente con una cantidad de fenómenos que podrían ser considerados no ob-

servables. Un ejemplo es la matemática pitagórica, que en el fondo no fue más que interpretaciones geométricas y numéricas de principios "fundamentales" del universo. Sin embargo, como tal, no presenta contradicción alguna con cualquier otra interpretación de tales matemáticas, puesto que estas, proviniendo del contexto más general posible, engloban cualquier posible interpretación que se aleje aparentemente de los principios metafísicos. De este modo, la fuente de inspiración para los matemáticos pitagóricos proviene no de un interés en la matemática de por sí, sino en una manera de meditar sobre las verdades del universo. De hecho, la palabra **matemática** proviene del latín *mathematica* y esta proviene del griego *μάθημα*, cuyo origen es la palabra griega que significa contemplación. La contemplación a su vez, es el estado de más profunda meditación. Los científicos tradicionales, encontraron dos niveles como fuente de inspiración para sus teorías; el primer nivel estuvo motivado por las observaciones de los fenómenos que llamaron su atención. El segundo nivel se motivó en la meditación sobre la relación de estos fenómenos y los principios universales de la metafísica (Guénon, 1982).

De modo más fundamental, la observación de los fenómenos y su identificación con los principios universales se basa en la comparación e identificación. Para ello es necesario el empleo de la lógica como medio de identificación. Nietzsche (2000) propuso que el origen de la lógica está vinculado con la identificación de lo ilógico; Y de hecho a través de un proceso de selección natural! Sin embargo, la visión de Nietzsche es muy estricta en este respecto, pero aun así, la proposición es muy útil. Si la lógica surge a través de identificar lo ilógico (como complemento a la primera) mediante procesos relativos a hechos cotidianos, entonces se puede establecer la metodología comparativa. A través de esta, se puede alegar que dos cosas son iguales porque no son distintas. Particularmente Nietzsche apoya esta metodología sobre procesos vitales y de supervivencia, pero no es necesario ser tan extremista. Si se quiere ser purista en discusiones filosóficas, podríamos entrar en el tema de que no existen dos cosas físicas que sean iguales. Sin embargo, es fácil soslayar esta complicación socráticamente (platónicamente), de manera que se pueden considerar dos cosas como "manifestaciones", "representaciones", o "proyecciones" de una que existe en la mente (o imagen ideal, según Kant, 1994). Por ejemplo, podemos decir que un animal determinado que identificamos como un caballo, es de hecho un caballo, porque lo identificamos con una imagen ideal o concepto



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

La Occidentalizada Ciencia
Moderna en Contraposición
de la Tradicional
Ciencia Antigua

de caballo, que solo existe de una manera perfecta en la mente. O más sencillamente, es imposible encontrar una verdadera circunferencia, y sin embargo, en nuestra mente tenemos el concepto y la imagen ideal de ella. Pero de cualquier manera, podemos identificar a una figura dibujada como una circunferencia, ya que no la identificamos con otra cosa. Es decir, sabemos que en el fondo eso no es realmente una circunferencia, pues sería imposible dibujar una, pero no la identificamos con otra cosa porque en nuestra mente no hay nada que se parezca a esa figura, y la que más se aproxima, es una circunferencia. Con estos ejemplos, entendemos como descartar cualquier cosa, que no sea el objeto ideal, pero podemos identificarlo como una representación del mismo.

3. Construcción Antigua de la Ciencia

A través de la construcción de la lógica por comparación y descarte, los científicos tradicionales pudieron identificar ciertos principios generales en la ciencia, identificándolo con otros principios metafísicos universales. Esto sucedió gracias a que fue posible hacer una correspondencia entre ciertos fenómenos observables e identificables con otros que fueron deducibles solo como un producto de la meditación sobre los principios metafísicos. Esta correspondencia, es muy probable que haya sido hecha a través de la identificación de contradicciones, postulados ilógicos y contraintuitivos sucediendo de la aplicación de los principios universales. Así fueron descartando una cantidad de fenómenos, hasta que quedara un único o unos pocos de donde el fenómeno observable era claramente explicable.

La gran desventaja de esto, es que el hacer ciencia o practicar el arte de la ciencia (*ars sine scientia, nihil*) estuvo restringido a unos pocos pertenecientes a ciertos grupos "elitescos". Los investigadores tradicionales no solo poseían una gran inteligencia y un amplio sentido de la observación, sino también una profunda confianza y conocimiento sobre los principios metafísicos que gobiernan al universo en un ámbito no observable.

4. La Contraposición de lo Antiguo con lo Moderno en la Ciencia

La ciencia moderna tiene como fundamentos algo muy distinto. Ubicándonos en un punto de vista en donde existe un dualismo de lo metafísico en

contra de lo físico, la ciencia moderna tiene como fundamentos argumentos totalmente contrarios a la ciencia tradicional. De hecho, aquella está muy vinculada con las necesidades sociales y políticas mientras que la última está vinculada con necesidades de descubrirse a sí mismo y de entender la naturaleza del ser.

No podemos descartar que en alguna etapa de la vida de los científicos exista un innegable romanticismo por la ciencia. Tal vez no como necesidad de entendimiento del ser, pero por lo menos como necesidad de entendimiento del entorno en donde se ubica el ser. Sin embargo, en la gran mayoría de los casos, este romanticismo es coartado y masacrado por la metodología actual de enseñanza. En esta muchas veces el aspirante es sometido a extremas evaluaciones de aptitud, conocimiento, resistencia, etc. Este sistema a la vez es producto de la distinta visión que hoy día hay en cuanto al estudio de los fenómenos naturales. Esta distinta visión tiene como característica general el enfoque sobre la materia, en el sentido de que se busca inmediata practicidad sobre el objeto de investigación. Esto está en total contraposición a la visión tradicional, en la cual el objeto principal es aquel intangible, metafísico, que subyace sobre toda posible teoría y entendimiento de los fenómenos observables (Guénon, 1982).

5. De los Puntos de Vista en Cuanto a la Eficacia de la Ciencia Moderna

En realidad es difícil alegar si la diferencia de enfoques entre la visión tradicional y la moderna es beneficiosa o no. Para ser mas objetivos en contestar esta interrogante, la misma merecería que se adoptase un punto de vista propicio, es decir, dadas las condiciones en una época determinada y en un lugar determinado se puede uno preguntar ¿es conveniente un determinado enfoque? No es la intención en este trabajo responder a esta pregunta, pero esto plantea a la vez muchas otras interrogantes interesantes. Tal vez las más directas están relacionadas con el método científico, que aún siendo totalmente aceptado, trae vicios incontrolables al científico. Estos vicios son una mera versión mal interpretada de los recursos que son necesarios para un avance científico verdadero, o "menos" degenerado (que se puedan considerar más cercanos a un fenómeno metafísico). Entre estos vicios por una parte está la neurótica necesidad por publicar en revistas científicas, y por otra parte encontramos una insaciable sed de esclarecer cualquier detalle posible de un fenómeno observado.

Pero este esclarecimiento no se plantea siempre en términos generales o principios básicos, sino en términos de un pseudo lenguaje que solo unos pocos especialistas pueden comprender. Sin embargo, no nos referimos como tal a la especialización o tecnificación del lenguaje. Más bien el pseudo lenguaje que resulta se origina como un proceso de reclasificación o reificación de otros conceptos, pero no de manera sintética, sino analítica. Cuando ocurre el proceso en sentido contrario, es decir, de manera sintética, es cuando los avances logran (o demuestran) tener un carácter general y por lo tanto se acercan más a un fenómeno abstracto. Sin exceso de prejuicios, un fenómeno abstracto se puede considerar que está engendrado en una mente (no necesariamente en el sentido fisiológico de ser una propiedad del cerebro), y que por lo tanto ya pertenece al dominio de la metafísica.

En los procesos analíticos se suele obtener sucesiva y reiteradamente el título de especialistas. A veces esto genera un gran orgullo que por sí mismo puede ser capaz de cerrar la capacidad de observación. Por ejemplo, es común que investigadores de "mérito" sean cerrados a nuevas ideas, sobre todo si estas provienen de personas que aparentemente no poseen el mismo mérito que ellos. Esto, bajo las condiciones actuales del gremio científico es hasta necesario, puesto que la subsistencia de un científico depende de su frecuencia de publicación, y esta a la vez depende de la originalidad de sus trabajos. Gracias a la inmensa competencia y a lo dificultoso de realizar observaciones e investigaciones realmente originales, el investigador se ve reducido a profundizar y tal vez hasta rebuscar en detalles de un fenómeno. De esta manera, el científico puede ser original, independientemente del impacto y de la relevancia con respecto a la unificación y construcción de principios globales.

Sin embargo, este proceso puede resultar en el vicio en donde el conocimiento científico, más que enriquecerse con estas contribuciones, realmente se fragmenta en un *quasi-continuum* de información. Así, los principios básicos, y aún aquellos descriptibles en términos no metafísicos, se pierden en el ruido del mar de información, en vez de aportar aspectos significativos a partir de los cuales realmente podría construirse una teoría general, todavía agnóstica y positivista, pero general para los fenómenos observables en cuestión.

No obstante, las dinámicas científica y de publicación tienen un objetivo muy distinto al de la ciencia tradicional. Por esta razón, los planteamientos que se acaban de hacer pueden ser cuestionables.

No por falsos o inválidos, pero sí por carácter de utilidad. Sin embargo, el extremo al que se puede llegar por los vicios académicos cae por debajo de la utilidad y de la necesidad. La eficacia de la ciencia moderna, está dada por intereses gremiales (Lawrence, 2003) y por necesidades tecnológicas. Estas de por sí están desvinculadas de lo metafísico, y por lo tanto lejanas a una motivación unificadora en una concepción global. Tal vez el único contraejemplo, está en la física teórica, que busca unificar los principios matemáticos que explican los fenómenos observables. Y aún en esta, los vicios son inevitables, y no existe una motivación para establecer un vínculo con una concepción metafísica. En otras palabras, la eficacia, en su concepción de utilidad popular, es por sí degenerada.

6. Un Intento Conclusivo

Es afanoso concluir algo que sea "digerible" para la sociedad científica actual, cuando se describe a la ciencia moderna desde un punto de vista que pretende ser una humilde aproximación a la ciencia tradicional. Sobre todo cuando existe una inmensa gama de tendencias del tipo "nueva era" que fácilmente pueden llevar a malinterpretar el sentido de lo tradicional. Por esta razón, no hay conclusión válida, sino solamente opiniones sobre los puntos de vista, que si bien pueden ser controversiales, nunca podrían llegar a tener una respuesta definitiva, sino más bien dependiente de la finalidad para la cual se establece un desarrollo científico, y más personalmente, la motivación con la cual se lleve a cabo este desarrollo. Igualmente, el establecer conclusiones sobre temas que son delicadamente dependiente de una visión subjetiva, puede conllevar a la creación de un prejuicio, más que proveer una verdadera conclusión.

REFERENCIAS

- Comejo, O. (2002) *Positivismo y Enseñanza de las Ciencias Biológicas en Venezuela a Finales del Siglo XX e inicios del Siglo XXI*. Preprint.
- Guénon, R. (1976) *El Reino de la Cantidad y el Signo de los Tiempos*. Editorial Ayuso, Madrid, España. Edición original en 1945.
- Guénon, R. (1988) *La Crisis del Mundo Moderno*. 2da Edición. Ediciones Obelisco, Madrid, España. Edición original en 1927.
- Kant, I. (1994) *Crítica de la Razón Pura*. 3ra Edición. Editorial ALFAGUARA, Madrid, España. Edición original en 1787.
- Lawrence, P.A. (2003) *The politics of publication* Nature **422**: 259 – 261.
- Nietzsche, F. (2000) *La Gaya Ciencia*. Editorial LIBSA, Madrid, España. Edición original en 1882.



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

La Occidentalizada Ciencia
Moderna en Contraposición
de la Tradicional
Ciencia Antigua

DE LA NADA ABSOLUTA AL ORIGEN DE LA VIDA

PARTE I: DE LAS MOLÉCULAS ESENCIALES

***Dr. Carlos Aponte, Dra. Mireya Sánchez**

Gerencia de Docencia e Investigación. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel."
Hospital José Gregorio Hernández, Caracas

RESUMEN

Comprender el origen de la vida en nuestro planeta depende de la comprensión del origen de los elementos químicos básicos constitutivos de la misma. Carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo y azufre (CHONPS) son los bloques esenciales de la vida. El Big Bang y la nucleosíntesis estelar serán la fuente de los elementos químicos de la vida. Este artículo (I parte), revisa el conocimiento que tenemos sobre la génesis de la materia y, en particular, la formación de la materia en el espacio.

ABSTRACT

The comprehension of the origin of life in our planet is the comprehension of the origin of basic chemical elements required by life. Carbon, hydrogen, oxygen, nitrogen, phosphorus and sulfur (CHONPS) are essential blocks of life. The Big Bang and stellar nucleosynthesis will be the source of these chemical elements. This paper (part one) reviews knowledge about the genesis of matter and, in particular, the formation of the chemical elements in the space.

INTRODUCCIÓN

Una aproximación al nacimiento del universo

Intentar reflexionar sobre el origen de la vida, nos obliga a remontarnos previamente al origen mismo del universo. Cuando nos preguntamos *¿De dónde surgió la vida?*, quizás también nos estemos preguntando *¿De dónde partió todo?*¹. Así, titulaba la revista *Discover* su número 5, de mayo 2002, con una muy sugerente bola roja, de un centímetro de radio, en el centro de la portada y acompañada de un rótulo: "el universo a los 10^{-34} segundos (Tamaño real)" (Fig. 1). Es decir, en su origen, toda la Energía del Universo se hallaba concentrada en un volumen ínfimo (la pequeña bola roja); de hecho a tiempo cero, la densidad de energía y la temperatura debía alcanzar valores infinitos dentro de un radio nulo².

Fue en 1929 que Edwin Hubble realizó una observación astronómica crucial: las galaxias se alejan unas con respecto a otras a una velocidad dada, y esta velocidad con la que dos galaxias cualesquiera se separan es proporcional a la distancia entre ellas según el modelo de Friedmann^{2,3,7}. Una galaxia situada a diez millones de años-luz se aleja de nosotros a 200 kilómetros por segundo, mientras que otra galaxia, situada a cien millones de años-luz, se aleja a 2000 kilómetros por segundo². Este movimiento de galaxias entra en correspondencia con la llamada ley de Hubble (la relación entre las distancias de las galaxias y el corrimiento al rojo de su luz). Este parámetro es la constante de Hubble, designada por H de unos 50 Km/seg. Es decir, las líneas espectrales de emisión de una galaxia dada que se aleja de nuestra posición cósmica tienden a estar desplazadas hacia el rojo^{2,3,4,5,6,7}. Así, parece ser que este corrimiento al rojo (el denominado efecto Doppler) está en relación con la velocidad de alejamiento de las galaxias en un universo en expansión. Por tanto, el universo no es

* Autor al que debe dirigirse la correspondencia. Dirección de Investigación. Gerencia de Docencia e Investigación. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Apdo 1040, Caracas-Venezuela, Teléfax: (02) 693 49 67 Correo electrónico: caponet2111@yahoo.fr.



Figura 1. Portada de la revista *Discover* su número 5, de mayo 2002.

estático sino que se encuentra en una constante expansión. De allí se deduce que a un momento anterior dado (entre diez y veinte mil millones de años) toda la materia del universo se encontraba densamente concentrada. En este punto la teoría de relatividad general de Einstein colapsa; y a esto se denomina matemáticamente: una singularidad^{2,3,4,5}. Esta pauta global de movimiento de las galaxias sugiere al inicio (tiempo cero) una explosión inicial, un *Big Bang* que origina todo tiempo/materia contenido en nuestro universo.

La génesis del todo

Antes de 10^{-43} segundos después del *Big Bang*, se halla la barrera de conocimiento, la barrera de Planck. Ahora bien, es importante dejar claro, que la misma idea de definir un "instante previo, anterior" (en término de espacio/tiempo) pierde sentido ya que el mismo espacio/tiempo se distiende, se deforma; lo cual es una predicción de la teoría de relatividad general de Einstein. Tanto espacio y tiempo son parte integrante del campo gravitacional del Universo; así, toda deformación del campo gravitacional se traduce en una deformación o curvatura del espacio/tiempo^{7,15,16}. Es decir, espacio y tiempo nacen de la misma nada al momento del *Big Bang*. Pero esa rara nada absoluta no es más que vacío cuántico, fluctuaciones cuánticas espontáneas e imprevisibles; el Principio de incertidumbre de Heisenberg (podemos saber la velocidad o la posición de un electrón pero nunca podrás obtener información simultánea de los dos variables) en el nacimiento del Universo. En la actualidad, se

habla de supercuerdas vibrando en un espacio/tiempo de 11 dimensiones^{15,18}. De acuerdo a esta teoría de cuerdas, una partícula elemental no es un punto sino un lazo de cuerda vibrante tal como, una cuerda de violín o de piano, la misma vibra a una diferente armónica: Mozart construyendo universos. Es decir, la vibración de una cuerda fundamental podría dar lugar a masas y cargas de fuerza²¹. Así, parece ser que el universo nace de una fluctuación cuántica a partir de un vacío infinitamente pequeño^{7,15,17}.

A los 10^{-43} segundos después del *Big Bang*, el equilibrio materia/antimateria se fractura, decantándose tal fractura a favor de la materia. Esta es la denominada era hadrónica, el universo como una pasta densa constituida por hadrones y leptones (partículas y antipartículas)^{7,13}. A los 10^{-34} segundos después del *Big Bang*, el universo que conocemos solo estaba constituido de un plasma de quarks (partículas constitutivas de protones y neutrones), gluones (partículas de intercambio de la fuerza nuclear) y otras partículas exóticas^{8,11,12}. A fuerte densidad; los nucleones se interpenetran y los quarks dejan de estar confinados dentro de los nucleones. Es a los 10^{-23} segundos –bajo la presión del enfriamiento por expansión– que se produce la transición hacia la materia ordinaria⁸. Sólo a los 100 segundos después del *Big Bang*, se forman los núcleos atómicos. Protones y neutrones se unen para formar los primeros núcleos atómicos. En este instante, el Hidrógeno se forma en el seno de esta sopa primordial. Todos los demás elementos químicos tendrán presencia en el universo sólo después de su génesis por nucleosíntesis durante el curso de la evolución estelar^{9,10,11}. Efectivamente, todos los elementos pesados, del carbono al uranio, han sido fabricados por evolución estelar, pero no así los elementos ligeros como el hidrógeno (ya mencionado), el helio, el litio, el berilio, el boro y sus isótopos, los cuales se originan de la nucleosíntesis primordial^{9,13}. El deuterio, isótopo pesado del hidrógeno, se debió formar solo cuando la temperatura disminuyó, y cuando el mismo llegó a ser abundante (aproximadamente $2 \times 10^{-5} \text{ g/cm}^3$), unos centenares de segundos después del *Big Bang*³⁶, entonces podía tener lugar la formación de núcleos más pesados, tales como ^3He y ^4He . Dado los valores bajos de densidad, los núcleos formados en el universo primitivo eran esencialmente los más ligeros (p. ej. ^7Li)^{2,9}. Estos núcleos ligeros son verdaderos fósiles cosmológicos (Fig. 2).

Por otro lado, en 1992, el satélite de la Nasa denominado COBE (Cosmic Background Explorer) realizó mediciones precisas de la radiación de fondo cosmológica (radiación primordial que baña todo nuestro universo e identificada por primera vez por los miembros de la Bell Telephone Laboratories en New Jersey: Arno Penzias & Robert Wilson). Dicha radiación, gestada 300 000 años después del *Big Bang* (Fig. 3), muestra zonas de una temperatura ligeramente superior (color oscuro) y de una ligeramente inferior (color claro) al promedio de $2.726 \text{ }^\circ\text{K}$



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

De la nada absoluta
al origen de la vida
Parte I: de las moléculas
esenciales

^{2,11}. Esas irregularidades (granularidad) observadas en el mapa-COBE no son más que un cliché-foto de ese instante del universo naciente. Estas áreas son los primeros embriones de lo que serán las estructuras galácticas en formación. Recientemente, el satélite americano Wilkinson Microwave Anisotropy Probe afinó estas fluctuaciones de temperatura y los resultados obtenidos indican que el universo, con una edad de 13.7 millones de años, posee una geometría plana o cuasiplana, y su expansión se acelera por la presencia de una misteriosa energía sombra u oscura^{11, 29}. Con la expansión del universo en gestación existe una disminución concomitante de la temperatura. Disminución que permite a su vez una segunda fractura de importancia, aquella relativa a la materia y luz (luz, rayos X y rayos γ); el universo deviene transparente a la radiación de fondo cosmológica⁷. En el pasado, la radiación cósmica estaba en equilibrio con la materia mediante interacciones entre fotones y electrones; en la medida que el universo se dilataba, la densidad original también disminuía y como consecuencia la interacción luz/materia se fractura. Cada fractura de simetría esta en relación con la disminución de temperatura debida a la expansión. La organización y reordenación de la materia (átomos, moléculas, estrellas, galaxias, cúmulos de galaxias, sistemas solares, planeta y vida en el universo será producto de la inevitable disminución de la temperatura del mismo por la expansión^{5, 19}. El crecimiento de la complejidad emerge de una interacción fructuosa entre lo infinitamente grande (planetas, estrellas, galaxias, Universo) y lo infinitamente pequeño (moléculas, átomos, nucleones, quarks, y supercuerdas)²⁰.

Fue hacia los 1000 millones de años después del *Big Bang*, que los cúmulos de materia comienzan a condensarse y forman quasars, estrellas y protogalaxias. Así, bajo la influencia de la materia oscura, los elementos ligeros y partículas se ensamblan para formar los gases en el seno de embriones de galaxias.

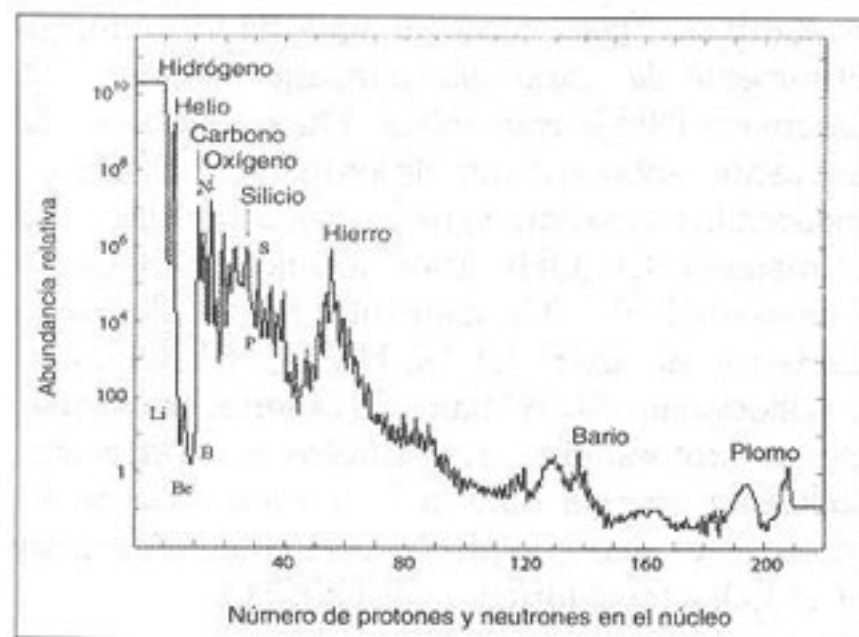


Figura 2. Abundancia de los elementos químicos desde los más ligeros hasta los más pesados. Li (Litio), Be (Berilio), B (Boro), N (Nitrógeno), P (Fósforo) y S (Azufre). Los más ligeros son verdaderos fósiles cosmológicos (Modificado referencia 20).

Bajo el efecto de la gravedad, el gas se densifica en nubes protogalácticas. En el seno de estas nubes se engendran las estrellas (Fig.4). Las estrellas se forman cuando las nubes moleculares entran en colisión o se desestabilizan por efecto de un fenómeno exterior. Recientemente, en la nebulosa Omega, a unos 7000 años-luz de la tierra, se detectó una estrella en formación, tan masiva como unas 20 masas solares³². Otro dato de importancia fue aportado por Walter et al.³⁴ analizando el quasar J1148+5251 detectaron un inmenso reservorio de gas y polvo altamente enriquecido en oxígeno y carbono lo que sugería que hace unos 850 millones de años después del *Big Bang* ya tenía lugar la primera serie de formaciones estelares y muerte de estrellas masivas.

Las estrellas juegan un papel de primera línea en la dinámica y evolución del universo: (a) Liberan una gran cantidad de energía (el corazón de estrellas recién nacidas se calienta a unas decenas de millones de grados Kelvin y se convierten en lugares para la fusión nuclear) y (b) sintetizan la mayoría de los elementos químicos. La observación de la abundancia de elementos en el universo tiende a presentar una cierta regularidad de una estrella a otra y a su vez mantiene cierta proporción con la que encontramos en nuestro sistema solar^{9, 10}. Una joven estrella transforma permanentemente hidrógeno en helio + fotones + neutrinos, hasta que el combustible es consumido. Entonces, la estrella se contrae de nuevo y, bajo la fuerte densidad alcanzada, la temperatura aumenta hasta unos 200 millones de grados. Bajo estas nuevas condiciones, los núcleos de helio se fusionan y generan núcleos de carbono (proceso triple α), engendrándose una gigante roja. Cuando todos los átomos de hidrógeno y helio han sido consumidos, la estrella se vuelve a contraer aumentando, por ende, su temperatura (hasta 500 millones de grados K). En ese momento, comienza la combustión de carbono ($^{12}\text{C} + ^4\text{He} \rightarrow ^{16}\text{O}$)³⁷, enriqueciéndose el centro de la estrella en elementos pesados (oxígeno, silicio, sodio,

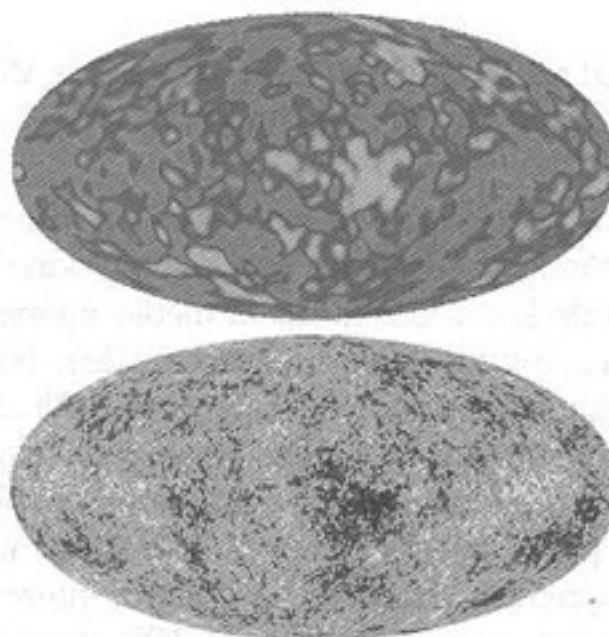


Figura 3. Radiación fósil detectada por COBE (imagen superior) y el WMAP (imagen inferior). Registro de variaciones de temperatura respecto al promedio de 2.726 °K. La granularidad del universo naciente. (webphysics.davidson.edu/.../cobe-wmap.htm).

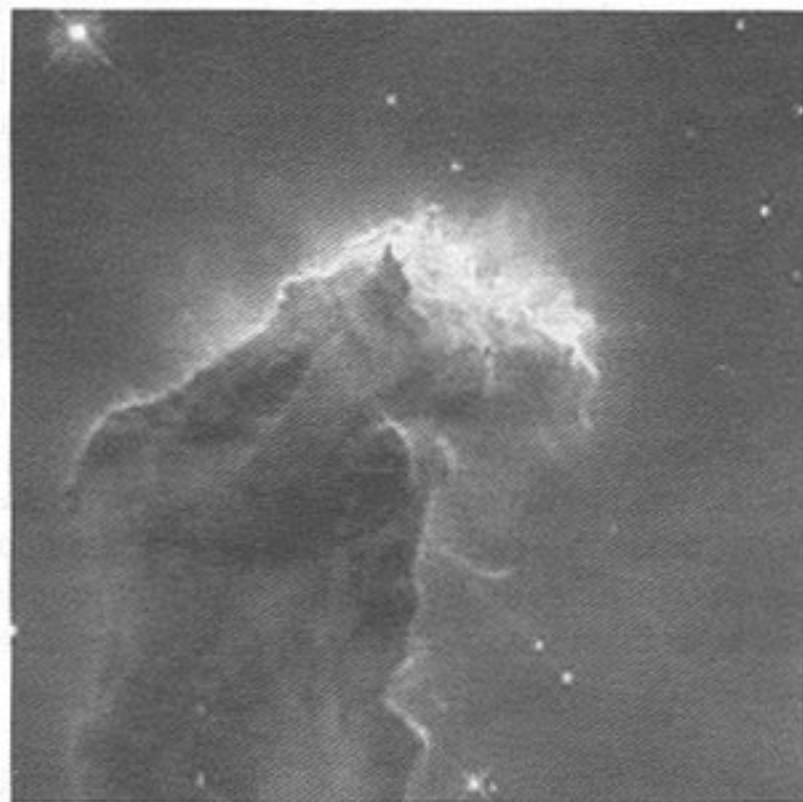


Figura 4. Formación estelar a partir de nubes moleculares. Nebulosa del Águila en M16. Se observan las columnas del gas hidrógeno y polvo cósmico que son la génesis de nuevas estrellas. (Hubble Space Telescope. NASA Copyright Free Policy).

y azufre). La tasa de producción total de carbono sólido a partir de estrellas enriquecidas en carbono es cerca de $0.002 M_{\odot}$ por año³⁷. Las estrellas que son pesadas en un orden de más de diez veces el Sol, el núcleo es principalmente de hierro^{9, 10, 14}. El punto final del colapso de una estrella dependerá de su masa: (a) enanas blancas si la masa de la estrella es 1.2 veces la masa del Sol, (b) Supernova, estadio para estrellas con masas de más de 10 veces que aquella del Sol o (c) un agujero negro, el colapso total de una estrella, donde nada, ni siquiera la luz, puede escapar. Un punto final donde la curvatura espacio/tiempo se hace infinita: **una singularidad**. En efecto, las mismas ecuaciones que describen un agujero negro, pueden describir el Universo naciente^{3, 7, 17}. El *Ouroboros* del Universo, la serpiente que se muerde la cola; perpetua transmutación de la vida y de la muerte.

MOLÉCULAS INORGÁNICAS, MOLÉCULAS ORGÁNICAS Y MEDIO INTERESTELAR.

La etapa de producción de moléculas a partir de los núcleos atómicos, comienza con la expulsión de los productos de la nucleosíntesis al medio interestelar mediante los vientos estelares, eyección de nebulosas planetarias y explosiones de supernovas. Alrededor de algunas estrellas variables rojas y de algunas estrellas de carbono existen verdaderas envolturas de gas y polvo eyectado por la estrella y que es rico en elementos pesados. La materia interestelar (MI) representa aproximadamente 10% de la masa de las galaxias y esencialmente esta compuesta de moléculas en fase gaseosa (H^+ , H_2 , 4He , CO , H_2O , CH_4 , y varias moléculas complejas como hidrocarburos aromáticos) y de granos de polvo (compuesto predominantemente de material orgánico y silicatos),

cubiertos de una delgada capa de hielo. Estos últimos pueden alcanzar del 1 al 2% de la masa total del gas interestelar. Es precisamente con el colapso gravitacional del polvo y la materia interestelar por las inestabilidades de la propia nube lo que conlleva a la formación de estrellas, las cuales suelen estar acompañadas de planetas y pequeños cuerpos más o menos sólidos^{14, 22, 23}. Así, las nubes densas y frías que existen entre las estrellas de nuestra galaxia y en las galaxias próximas, se encuentran enriquecidas de moléculas interestelares constituidas principalmente por carbono, hidrógeno y nitrógeno en varias combinaciones^{22, 23}. Es menester destacar que en estas nubes densas pueden tener lugar la síntesis molecular tanto en fase gaseosa como en la superficie (o en el interior) de los granos de polvo interestelar²⁶. Gracias a la radiación milimétrica, se han descubierto cientos de moléculas orgánicas y radicales libre muy activos en el interior de estas nubes. Entre las moléculas orgánicas detectadas tenemos: alcoholes, éteres, acetona, cadenas carbonadas ≥ 15 C y anillos carbonados (p.ej. ciclopropanodieno C_3H_2). Ya en 1904, Hartmann, observando el espectro de la estrella Orionis, nota la existencia de dos rayas espectrales de 3934 y 3968 nm, características del ión Call (átomo de calcio ionizado). Sin embargo, las principales rayas de absorción son debidas a los átomos de sodio, de potasio, de titanio y de calcio (como ya dijimos) ionizados^{24, 26, 27}. En 1963, Barrets & Meeks detectan una intervalo de la radiación correspondiente a las ondas de radio de 18 cm de longitud de onda dependiente del radical hidroxilo (OH). En 1986, Lucas y col. detectaron en la envoltura gaseosa expelidas por estrellas durante su evolución^{22, 23, 30, 31}. Las más abundantes especies en estas nubes es el hidrógeno (H_2) y la especie carbonada CO ($CO/H_2 = 10^{-4}$). Con ordenes de 10^{-3} - 10^{-4} , se encuentran el formaldehído (H_2CO), cianuro de hidrógeno (HCN), amoníaco (NH_3) y metilacetileno (CH_3CCH). Otra serie de especies moleculares participan en la formación de los mantos de hielo de la superficie de los granos de polvo cósmico, a partir de reacciones esencialmente exotérmicas, tales como el agua (H_2O) [principal absorbente de ondas milimétricas], metano (CH_4), amoníaco (NH_3), entre otras. Otras reacciones de activación, sobre o dentro de los mantos hielificados, inducen la formación de moléculas complejas como el metanol (CH_3OH), ácido fórmico ($HCOOH$) y formaldehído (H_2CO). Elementos trazas tales como Carbonilo de azufre (OCS), H_2CO , $HCOOH$, CH_4 e isotiocianato (OCN) han sido observados cerca de ciertas protoestrellas. Las estrellas masivas liberan suficiente energía para la formación de especies moleculares más complejas, tales como dimetileter ($(CH_3)_2O$) y metil formato ($HCOOCH_3$).

El carbono

La abundancia de carbono cósmico es un parámetro de relevancia para las consideraciones que a postero-



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

De la nada absoluta
al origen de la vida
Parte I: de las moléculas
esenciales

ri deberemos considerar ya que la evolución cósmica del carbono en los discos protoplanetarios y en planetisimales podría tener implicación en la evolución posterior de la vida sobre una superficie planetaria dada. Las medidas de carbono solar es de alrededor de 355 ± 50 átomos de carbono por 10^6 átomos de H (ppm). Sin embargo, la abundancia del mismo en materia interestelar es de unos 225 ± 50 ppm. Más del 20% suele incorporarse en forma de CO gaseoso pero una importante fracción se encuentra presente en largas especies carbonadas tales como hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) y carbono macromolecular en granos (carbono amorfo y material tipo kerógeno complejo)^{31, 37}. Las especies moleculares orgánicas detectadas en el espacio van desde las más simples del tipo diatómicas (por ejemplo, CO, CN, C₂, CH, CH⁺, CN⁺, y CO⁺) a aquellas denominadas poliatómicas (CH₂, CH₄, C₂H₂, CH₃OH, CH₃CH₂OH, H₂CO, y HCN). Así, también encontramos moléculas grandes, complejas e insaturadas [radicales acetilénicos (C_nH), cianopoliinos (H C_nN), carbinos, cadenas carbonadas del tipo C_nH_m (donde $n < m$) y las moléculas hidrocarbonadas aromáticas policíclicas (PAHs). Los PAHs son las moléculas complejas más abundantes en el espacio³⁷, con una abundancia respecto de aquella del hidrógeno de 10^{-7} .

Como ya sabemos, las nubes interestelares son contentivas de variadas moléculas orgánicas así, p. ej. la nebulosa del Insecto, NGC 6302, se formó del gas eyectado de una estrella de unos 250 000°C. El análisis de la composición química del gas y polvo que rodea a la no visible estrella del Insecto revela la presencia de hidrocarburos, de agua hielificada, hie-

ro y carbonatos³³. Mas recientemente, el telescopio japonés *Subaru*, detectó la presencia de la especie orgánica glicina (el más simple de los aminoácidos: NH₂CH₂COOH), en el interior de tres diferentes nubes de formación de estrellas: Sgr B2(N-LMH), Orion KL, y W51 e1/e2²⁸. Pilling y col. (2005)³⁸ mostraron una posible vía preferencial para la formación de glicina mediante procesos de fotodisociación y fotoionización de las moléculas precursoras, ácido fórmico y ácido acético, en estas nubes. Sin duda, la presencia de tal compuesto orgánico podría tener implicación en la bioquímica terrestre y en la síntesis prebiótica.

La presencia de material orgánico primitivo ha sido detectado en meteoritos condriticos carbonados, partículas de polvo interplanetario de origen cometa y granos de los cometas P/Halley, Hale-Bopp y Hyakutake^{37, 39}. Los hielos cometarios son predominantemente agua hielificada. La abundancia de carbono orgánico en partículas cometarias puede ser tanto como 50% del total del material constitutivo. Una amplia variedad de moléculas con una posible implicación en química prebiótica han sido detectadas en los cometas, así tenemos H₂O, CO₂, H₂CO, NH₃, HCN, CH₃CN, HNCO y H₂S. Otras especies más complejas han sido también identificadas, tales como acetaldehído (CH₃CHO), metil formato (HCOOCH₃), formamida (NH₂CHO) y especies similares a la glicina (NH₂CH₂COOH), no muy significativamente abundante. Es importante recalcar a este punto, que los cometas parecen ser detritus de la nube que colapsó en aquella nebulosa solar que originó el sol y los planetas. Los mismos se encuentran relegados

Number of atoms

2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
H ₂	C ₃	c C ₃ H	C ₅	C ₅ H	C ₈ H	CH ₃ C ₃ N	CH ₃ C ₄ H	CH ₃ C ₅ N?	HC ₅ N	C ₈ H ₈
AlF	C ₃ H	IC ₃ H	C ₄ H	IC ₃ H ₄	CH ₂ CHCN	HCOOCH ₃	CH ₂ CH ₂ CN	(CH ₃) ₂ CO		HC ₁₁ N
AlCl	C ₃ O	C ₃ N	C ₄ Si	C ₃ H ₄	CH ₃ C ₃ H	CH ₃ COOH?	(CH ₃) ₂ O	NH ₂ CH ₂ COOH?		PAHs
C ₂	C ₂ S	C ₃ O	IC ₃ H ₂	CH ₃ CN	HC ₅ N	O ₃ H	CH ₃ CH ₂ OH	CH ₃ CH ₂ CHO		C ₄₀ 7
CH	CH ₂	C ₃ S	c C ₃ H ₂	CH ₃ NC	HCOCH ₃	H ₂ C ₆	HC ₇ N			
CH ⁺	HCN	CA	CH ₂ CN	CH ₃ OH	NH ₂ CH ₃	HOCH ₂ CHO?	C ₈ H			
CN	HCO	CH ₂ D?	CH ₄	CH ₃ SH	c C ₁ H ₄ O					
CO	HCO ⁺	HCCN	HC ₃ N	HC ₃ NH ⁺	CH ₂ CHCHO					
CO ⁺	HCS ⁺	HCNH ⁺	HC ₂ NC	HC ₂ CHO						
CP	Rot	HNCO	HCOOH	NH ₂ CHO						
CSi	HO	HNCS	H ₂ CHN	C ₅ N						
HCl	H ₂₅	HOCO ⁺	H ₂ C ₂ O							
KCl	HNC	H ₂ CO	H ₂ NCN							
NH	RHO	H ₂ CN	HNC ₃							
NO	MgCN	H ₂ CS	SiH ₄							
NS	MgNC	H ₃ O ⁺	H ₂ COH ⁺							
NaCl	N ₂ H ⁺	NH ₃								
OH	N ₂ O	SiC ₃								
PN	MaCN	CH ₃								
SO	OCS									
SO ⁺	SO ₂									
SiN	c SiC ₂									
SiO	CO ₂									
SiS	NH ₂									
CS	H ₃									
HF	H ₂ D ⁺									
SH	SiCN									
FeO (¿?)	AiNC									

TABLA 1. Moléculas Interestelares y Circumstelares (Modificado Referencia 31).

en nubes externas que rodean al sistema solar denominadas nube de Oort. [a unos $10^4 - 10^5$ unidades astronómicas (AU) del sol] y "Kuiper Belt" (localizada más allá de Neptuno, a unos 30 - 100 AU).

Los meteoritos vienen a ser otra fuente de materia orgánica. Los del tipo condritos carbonados contienen cantidades significativas de carbono. La mayor parte se encuentra en una fracción orgánica macromolecular; compuestos tales como compuestos aromáticos (naftaleno, fenantreno, antraceno, indano, pirroles y benzotiofeno) nucleobases, cetonas, ácidos carboxílicos, aminos y amidas han sido identificados^{31, 39}. También se han identificado más de 70 aminoácidos, ocho de los cuales se incluyen entre los 20 aminoácidos utilizados por las células vivientes. Interesantemente, al sumergir meteoritos carbonados en agua destilada se observa la presencia de aminoácidos rico en deuterio^{40, 41}. Por otro lado, Backer *et al* (2000)⁴² identifica, en los condritos carbonados de Murchinson y Allende, moléculas carbonadas de muy alto peso molecular denominados fullerenes ($C_{60} - C_{400}$). En nuestra próxima entrega (De la Nada Absoluta al Origen de la Vida. Parte II: De la Formación del Sistema Solar y Condiciones para la Vida) profundizaremos estos aspectos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lemley, B. 2002. La Gran Adivinanza de Guth. Discover. 6(5): 24 - 31
- Reeves, H. 2002. Dernières Nouvelles du Cosmos. Edit. du Seuil. Seuil 27 r. Jacob. Paris 6. France.
- Hawking, S. 1996. Historia del Tiempo. Ilustrada. Crítica. Grijalbo Mondadori. Barcelona. España.
- Davies, P. 1985. Superfuerza. Biblioteca Científica Salvat. Salvat Edit. Barcelona. España.
- Chaisson, E. 1987. El Amanecer Cósmico. Biblioteca Científica Salvat. Salvat Edit. Barcelona. España.
- Ferrys, T. (1999) La Aventura del Universo. De Aristóteles a la Teoría de los Cuantos: Una Historia Sin Fin- Drakontos. Planeta. Barcelona. España.
- Hawking, S. 2002. El Universo en una Cáscara de Nuez. Crítica/Planeta. Barcelona. España.
- Gerschel, C. & Kluberg, (1989). El Plasma de Quarks y Gluones: en Busca de un Nuevo Estado de la Materia. M. Cient: La Recherche. 9: 1246 - 1247
- Wagoner, R & Goldsmith, D. 1984. Horizontes Cósmicos. Edit. Labor. SA. Barcelona. España.
- Rees, M. 2002. Nuestro Hábitat Cósmico. Edit. Piados Ibérica SA. Barcelona. España.
- Debroise, A. 2002. La Forme de l'Univers: la Fin d'une Énigme. Sci. & Vie. Hors serie. 221: 38 - 43
- Sincell, M. 2004. Eight Great Mysteries. Origin & Fate of the Universe. Astronomy. Collector's Edition. Nov. 30: 012 - 017
- Demaret, J. & Vandermeulen, J. 1982. Cosmología y partículas. M. Cient: La Recherche. 2: 1212 - 1223
- Debroise, A. 2002. D'Où Viennent Les Etoiles? Sci. & Vie. Hors serie. 221: 54 - 61
- Trinh Xuan Thuan. 1998. Le Chaos et L'Harmonie. Le Fabrication du Réel. Fayard. Paris. France.
- Davies, P. 2002. Avant le Big Bang. La Recherche. 349: 32 - 36
- Gribbin, J. 1990. Nacimiento y muerte del Universo. El Correo de la UNESCO. Mayo. 36 - 40
- Witten, E. 2004. Universe on a String. Origin & Fate of the Universe. Astronomy. Collector's Edition. Nov. 042 - 047
- Trefil, JS. 1986. El Momento de la Creación. Biblioteca Científica Salvat. Salvat Edit. Barcelona. España.
- Reeves, H. 1998. Oisaeux, Merveilleux Oiseaux. Le Dialogues du Ciel et de la Vie. Editions du Seuil. 27, rue Jacob, Paris VI^e. France.
- Greene, B. 2001. El Universo Elegante. Drakontos. Planeta. Barcelona. España.
- Lequeux, J. 1985. La Química Interestelar. Mundo Científico. La Recherche. 47: 554 - 562
- Combes F. 1989. El Universo Frio. Mundo Científico. La Recherche. 9: 712 - 721
- Lucas, R. & Cernicharo, J. 1989. Discovery of strong maser emission from HCN in IRC+10216. Astron. Astrophys., 54: L11
- Guelin, M., Cernicharo, J.; Kahane, C.; Gomez-Gonzalez, J.; Walmsley, C. M. 1987. Detection of a heavy radical in IRC + 10216 - The hexatriynyl radical C_6H ? Astron. Astrophys., 175: L5
- Ferlet, R. 1983. El Medio Interestelar Difuso. Mundo Científico. La Recherche. 32: 34 - 44
- Ehrenfreund, P., Bernstein, MP., Dworkin, JP., Sandford, SM., Allamandola, LJ. 2001. The photostability of amino acids in space. Astrophys. J. 550: L95 - L99
- Kuan, Y.J., Charnley, S.B., Huang, H.C., Tseng, W.L., and Kisiel, Z. 2003. Interstellar Glycine. ApJ., 593: 848
- Bennett CL., M. Halpern, G. Hinshaw, N. Jarosik, A. Kogut, M. Limon, S. S. Meyer, L. Page, et al. 2003. First-Year Wilkinson Microwave Anisotropy Probe (WMAP) Observations: Preliminary Maps and Basic Results. ApJS. 148. 1
- Charnley, SB., Ehrenfreund, P., & Kuan, YJ. 2001. Spectroscopic diagnostics of organic chemistry in the protostellar environment. Acta Spectrochim. 57: 685 - 7040
- Ehrenfreund, P., Irvine, W., Becker, I., Blank, J., Brucato, JR., Colangeli, I., Derenne, S., Despuis, D., Fraaije, H., Lazcano, A., Owen, T., Robert, F. 2002. Astrophysical and astrochemical insights into the origin of life. Rep. Prog. Phys. 65: 1427 - 1487.
- Chini R, Hoffmeister V, Kimeswenger S, Nielbock M, Nurnberger D, Schmidtobreich L, Sterzik M. 2004. The formation of a massive protostar through the disk accretion of gas. Nature. 429: 155
- Matsuura, M. Zijlstra A.A., Molster F.J., Waters L.B.F.M., Nomura H., Sahai R., Hoare, M.G. 2004. HST, VLT and JCMT observations of the disk and bipolar outflows of the planetary nebula NGC6302. Astron. Astrophys. <http://antwrp.gsfc.nasa.gov/apod/ap040505.html>
- Walter, F., Bertoldi F, Carilli C, Cox P, Lo KY. 2003. Molecular gas in the host galaxy of a quasar at redshift $z = 6.42$. Nature. 424: 406
- Bertoldi, F; Carilli, CL; Cox, P; Fan, X; Strauss, MA; Beelen, A; Omont, A; Zylka, R. 2003. Dust emission from the most distant quasars. Astron. Astrophys. 406: L55-L58
- Hogan, CJ. 1996. Primordial Deuterium and the Big Bang. Sci. Amer. 275: 36 - 41
- Henning, Th. & Salma, F. 1998. Carbon in the Universe. Science. 282: 2204 - 2210.
- Pilling S., Boechat-Roberty H. M., Baptista L., and Santos A. C. F. 2005. Preferential pathway for glycine formation in star-forming regions. Astroch: Recent Succ. And Curr. Challeng. Proc. IAU Symp. 231: 1 -2
- Bernstein, MP., Sandford, SA., Allamandola, LJ. 1999. Life's far-flung raw materials. Sci. Amer. 281(1): 42 - 49
- Epstein, S., Krishnamuty, R.V., Cronin, J.R., Pizzarello, S., and Yuen, G. U. 1987. Unusual Stable Isotope Ratios in Amino Acids and Carboxylic Acid Extracts from the Murchison Meteorite. Nature. 326: 477-479
- Robert, F. 1990. Las primeras moléculas orgánicas. M. Cient. 103: 640 - 651
- Becker L. Poreda RJ. & Bunch TE. 2000. Fullerenes: An extraterrestrial carbon carrier phase for noble gases. PNAS 97(7) 2979-2983.



Acta Científica
de la Sociedad
Venezolana
de Bioanalistas
Especialistas

De la nada absoluta
al origen de la vida
Parte I: de las moléculas
esenciales