

# Temas de actualidad

## Fagos de neumococo: una perspectiva histórica

Rubens López<sup>1</sup>, Pedro García y Ernesto García

Centro de Investigaciones Biológicas. CSIC. Velázquez 144, 28006 Madrid.

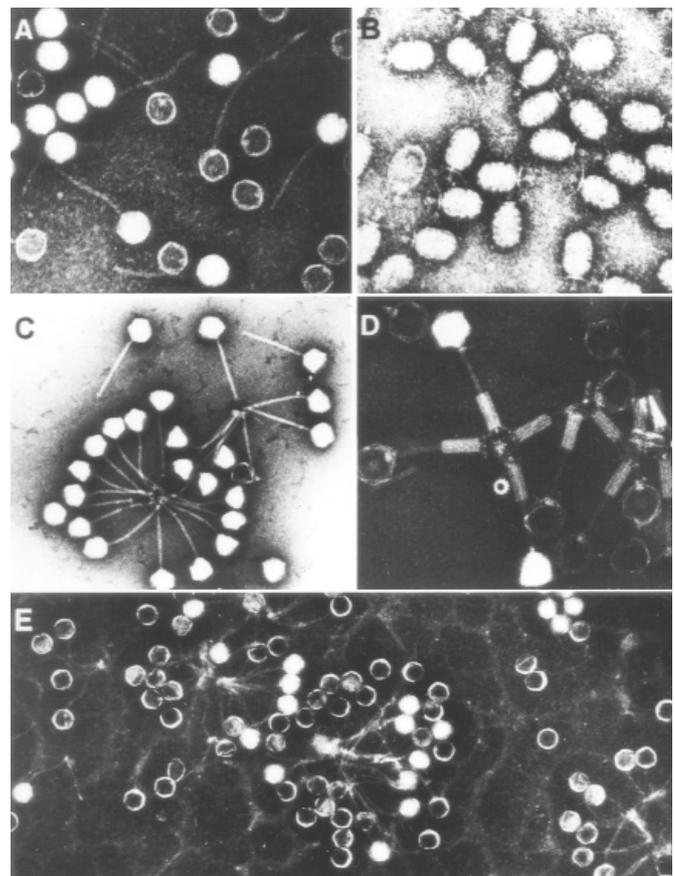
<sup>1</sup>E-mail: ruben@cib.csic.es

*Streptococcus pneumoniae* (neumococo) es un patógeno humano que en los años 40 se encontraba entre las principales causas de muerte. En la actualidad, casi sesenta años después de que se generalizara el uso de la penicilina, los trabajos sobre neumococo suelen comenzar con la socorrida frase que señala que se trata de "un importante patógeno humano y un agente etiológico común de las neumonías y meningitis adquiridas en la comunidad en adultos y de las otitis agudas en niños", observaciones que se resumen en que esta bacteria infecta a unos 100 millones de personas al año con una tasa de mortalidad de un 10%. Son muchas las razones que ayudan a explicar por qué neumococo continúa siendo considerado como una bacteria patógena de marcado interés clínico, entre las que se cuenta la gran variabilidad del *locus* capsular responsable de la formación de hasta 90 tipos diferentes de polisacáridos que rodean a la pared celular, y su destacada plasticidad genómica facilitada, en gran medida, por su excepcional capacidad para adquirir DNA libre de su entorno natural. Es sobradamente conocido que neumococo fue históricamente el auténtico conejillo de indias de la biología molecular en los años 40, probablemente debido, como ya se ha señalado, a esa capacidad para captar DNA del medio en que vive (transformación bacteriana) lo que facilitó que fuera en este sistema donde se demostrara que el ADN era la molécula portadora de los caracteres hereditarios, usando como marcador fenotípico la cápsula que le confiere virulencia [1].

Con estos acrisolados antecedentes resultaba llamativo que a mediados de los años 70 el único mecanismo de intercambio genético descrito en este sistema fuese la transformación genética que, por aquellos años, ya había sido muy bien estudiada a nivel fisiológico. No obstante, hasta entonces no se habían podido desarrollar en este patógeno mecanismos de intercambio tales como la conjugación o la transducción a través de la utilización de fagos, en este último caso porque no se había conseguido aislar bacteriófagos en *S. pneumoniae*. En 1975 se publicaron los dos primeros trabajos en los que se describía el aislamiento de tales fagos. El denominado fago Dp-1 (*Diplococcus*

*phage*) fue identificado, a partir de frotis obtenidos en un hospital del Bronx, por McDonnell y Ronda trabajando en el laboratorio de A. Tomasz en la Universidad Rockefeller en Nueva York [8]. Un segundo fago,  $\omega$ -1, así denominado por la morfología que presentaban las células bacterianas después de la lisis, fue descrito, al mismo tiempo que Dp-1, por el matrimonio Tiraby en el laboratorio de M. Fox en el MIT de Boston [15].

Hasta el momento se han caracterizado en gran detalle cinco fagos capaces de infectar a *S. pneumoniae*. Como se puede apreciar en la figura 1, estos fagos exhiben una gran variabilidad morfo-



**Figura 1.** Micrografías electrónicas de bacteriófagos de *Streptococcus pneumoniae*. Fagos líticos Dp-1 (A) y DCp-1 (B). Fagos atemperados HB-3 (C), EJ-1 (D) y MM-1 (E). Los fagos Dp-1, HB-3 y MM1 pertenecen a la familia *Siphoviridae*, Cp-1 es un *Podoviridae* y EJ-1 es un miembro de la familia *Myoviridae*.

lógica ya que tres de ellos pertenecen a la familia *Siphoviridae* (Dp-1, HB-746, MM1), y los otros dos han sido identificados como *Podoviridae* (Cp-1 y fagos relacionados como Cp-5 y Cp-7) y *Myoviridae* (EJ-1). Asimismo, dos de estos fagos son líticos (Dp-1 y Cp-1) mientras que los otros tres son fagos atemperados. Excepto en el caso de HB-746, un fago aislado en Nueva York por H. Bernheimer [2], una investigadora muy relacionada con la escuela de Avery, los otros fagos han sido identificados por miembros de nuestro laboratorio. Asimismo, conviene destacar, al tratarse en este trabajo de resaltar el aspecto histórico de estos fagos, que la caracterización detallada de estos cinco fagos ha sido realizada en su mayor parte en el laboratorio de Genética Bacteriana del Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC.

La identificación del fago Dp-1 iniciada durante las estancias realizadas por los Drs. C. Ronda y R. López en el laboratorio del Prof. A. Tomasz en la Universidad Rockefeller de Nueva York en los años 1974 y 1977, encontró su continuación en España con la incorporación a nuestro laboratorio, en 1978, de los Drs. Ernesto García y Pedro García. En estas primeras etapas de nuestro trabajo, el aislamiento del DNA de Dp-1 permitió poner a punto un sistema de transfección en neumococo, lo que significó la primera alternativa a la transformación genética como procedimiento de transmisión de información en esta bacteria [13]. Además, se realizó la caracterización físico-química de este grupo de fagos, así como un análisis de su replicación y un detallado estudio del DNA [5].

Los primeros aislamientos de fagos de neumococo realizados en España se remontan a finales de los años 70 y, poco después, en 1981, se publicó la caracterización del fago Cp-1 [12]. El nombre de este fago se debe a que los miembros de esta familia se aislaron a partir de frotis faríngeos tomados de niños sanos por el Dr. Domínguez, del Hospital de la Cruz Roja (entonces ubicado en Cuatro Caminos), en Alcalá de Henares; de ahí su denominación de *Complutense Phage*. Conviene recordar que la razón que nos llevó a estimular esta línea de investigación, por encima de cualquier consideración científica sobre el interés que tenía el estudio de los fagos de neumococo, se fundamentó en la precariedad de los fondos destinados por entonces a la investigación científica durante aquellos años de la transición democrática. En esos momentos, se destinaba a la mayor parte de los grupos de trabajo unas pocas pesetas por investigador y mes. En estas condiciones disponíamos de poco más que placas de agar, y por supuesto, contábamos con la generosidad del Dr. Domínguez. Esta situación era sólo, una vez más, la escenificación sangrante de esas dos caras de Jano con que se ve periódicamente agravada la

Investigación Científica en países como el nuestro, donde se carece de una cultura científica acorde con el nivel avanzado de nuestra sociedad (es decir: ahora considero la Investigación Científica fundamental y, poco después, digo aquello de "que investiguen ellos"). Todo ello encuentra su reflejo en unos políticos para los cuales aparecemos, esperemos que no para siempre, como poco más que un lujo que se debe mantener por simple prestigio.

Evidentemente, de las muestras que se nos proporcionaron se aislaron otros fagos tales como el Cp-5 y el Cp-7; este último resultó de gran importancia para la caracterización estructural de las enzimas líticas de *S. pneumoniae* y sus bacteriófagos, otro de los temas de investigación que ha marcado el rumbo de nuestro grupo.

Antes de que se publicara el aislamiento de Cp-1, en 1980 se celebraron, a la sazón, las primeras jornadas de puertas abiertas organizadas por el CSIC y, dentro del apartado dedicado a biología molecular en una sesión presidida por M. Salas, R. López presentó datos preliminares de nuestro laboratorio en los que se sugería que el DNA de este grupo de fagos poseía una proteína unida al DNA, una situación similar a la descrita en el fago  $\phi 29$ . Es bien sabido que del detallado estudio de este fago ha derivado una contribución seminal, en aportaciones científicas y humanas, al desarrollo de la biología molecular en España, impulsada por M. Salas y E. Viñuela. Asimismo, existía una gran similitud morfológica entre Cp-1 y  $\phi 29$  lo que llevó a algún ilustre colaborador de M. Salas a señalar, creemos que sin ironía, que en nuestro laboratorio habíamos reaislado el fago  $\phi 29$ . De la afortunada similitud entre estos fagos surgió una fructífera colaboración con M. Salas, buscando las coincidencias y divergencias entre dos fagos que infectaban huéspedes aparentemente muy diversos al tratarse de un parásito humano (*S. pneumoniae*) y de una bacteria del suelo (*Bacillus subtilis*). De nuestro trabajo en común se pudo concluir, como se documentó a través de una serie de publicaciones (para una revisión reciente, ver [5]) que, en efecto, Cp-1 poseía una proteína de 26,8 kDa unida covalentemente por una treonina a la primera deoxiadenoquina de los extremos 5' del DNA de Cp-1 [5] y que este fago replicaba su DNA siguiendo una pauta muy similar a la que se había documentado ampliamente en el caso del fago  $\phi 29$ . Asimismo, se determinaron los mapas físicos de varios fagos de la familia Cp y cabe destacar que el fago Cp-7 que era el que presentaba una mayor divergencia con el resto de los componentes de esa familia, poseía un genoma 1 kb más largo.

El aminoalcohol colina es un componente estructural de los ácidos teicoicos de neumococo y

durante muchos años se pensó que se trataba de una peculiaridad exclusiva de este microorganismo. Hoy se sabe que existe un limitado número de bacterias que comparten esta característica [4]. La colina juega un papel muy importante en la fisiología de neumococo; así, la sustitución de colina por el análogo estructural etanolamina determina cambios bioquímicos muy drásticos en la actividad específica de la principal enzima autolítica de esta bacteria (*LytA*) así como grandes alteraciones morfológicas como son la formación de largas cadenas de células que no se autolisan al final de la fase estacionaria de multiplicación. Entre 1982 y 1986 se puso de manifiesto que, para que el fago lítico Dp-1 se adsorbiera a la célula huésped y tuviera lugar un ciclo infectivo, era fundamental la presencia de ácidos teicoicos conteniendo colina en la pared de *S. pneumoniae* [5]. Asimismo, se caracterizó como una amidasa la enzima codificada por este fago, una amidasa (Pal) similar a la codificada por la bacteria huésped. En ambos casos se requería la presencia de colina en las paredes usadas en ensayos *in vitro* para ser enzimas activas.

La clonación del primer gen de un fago de neumococo tuvo lugar apenas dos años después de la clonación del gen *lytA*. Esto último supuso el primer caso de manipulación genética de una autolisina en organismos procarióticos. Cpl1 fue identificada como una muramidasa que compartía con la amidasa de neumococo y con la Pal de Dp-1 el ser dependiente de la presencia de colina para desarrollar su actividad [5]. Estas observaciones nos llevaron a sospechar que este requerimiento de colina en los sustratos que degradaba podría

llevar implícito una similitud a nivel molecular entre las enzimas que compartían esta peculiaridad. Aprovechando la disponibilidad del gen *lytA* se usó el mismo como sonda de reconocimiento de regiones similares en el genoma de varios fagos de la familia Cp, todo lo cual nos condujo a la identificación de los genes correspondientes que se comprobó, posteriormente, que codificaban, asimismo, enzimas líticas. Poco después se pondría a punto en nuestro laboratorio un método simple de purificación de estas enzimas, dependientes de colina para su actividad, en columnas de DEAE-celulosa aprovechando el hecho de que la dietil-etanolamina es un análogo estructural de la colina. Las comparaciones de las secuencias de *lytA* y *cpl1* permitieron poner de manifiesto que casi la mitad de dichos genes era prácticamente idéntica lo que permitió postular que esa región de la proteína era responsable del reconocimiento de los sustratos con colina [3].

Estas observaciones se ampliaron posteriormente a las enzimas líticas de otros fagos de la familia Cp-1 así como a otros grupos de fagos, y conviene destacar que, en el caso del fago Cp-7, se encontró una muramidasa que no tenía similitud en las regiones de reconocimiento de colina con las descritas anteriormente lo que se reflejaba en su comportamiento bioquímico por la pérdida de la dependencia de la presencia de colina en los ácidos teicoicos para ejercer su actividad; de ahí que la lisozima Cpl17 fuera capaz de degradar indistintamente paredes conteniendo colina o etanolamina [5]. Con los instrumentos moleculares desarrollados en estos años nos fue posible formular la hipótesis de que las regiones C-termina-

### Rubén López

es licenciado en Ciencias Biológicas y doctor en Ciencias por la Universidad Complutense de Madrid. Inició su trabajo de investigación



en el Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC donde en la actualidad es Profesor de Investigación. Ha trabajado en la Universidad Rockefeller de Nueva York, en el Instituto Superior de Sanidad de Roma y en la Universidad Agrícola de Wageningen en Holanda. Su trabajo de tesis se centró en el estudio de polisacáridos de *Azotobacteriaceae*. Desde 1973 trabaja en neumococo, en particular

en la enzimas líticas de *S. pneumoniae* y sus bacteriófagos, y más recientemente, en los polisacáridos de este microorganismo.

### Ernesto García

obtuvo su Doctorado en Biología por la Universidad Complutense de Madrid e inició su labor de investigación en el Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC) donde es actualmente Profesor de Investigación. Ha trabajado en el *Centre d'Etudes de l'Energie Nucleaire* en Mol (Bélgica) sobre el destino del DNA inyectado en animales. Desde 1978 trabaja en diversos aspectos de la biología molecular de neumococo



y sus fagos. En 1989 le fue concedido el Premio Lorenzo Vilas de la SEM.

### Pedro García

es doctor en Ciencias Químicas y licenciado en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid.



En 1978 inició su labor investigadora en el Centro de Investigaciones Biológicas donde es actualmente Científico Titular. Ha trabajado en el CNRS de Toulouse sobre la hiperrecombinación y la ruta corta de reparación de errores en el DNA de neumococo. Su trabajo en el CIB se ha centrado fundamentalmente en las enzimas líticas de neumococo y sus bacteriófagos.

les de la amidasa del huésped y de las enzimas líticas codificadas por fagos de neumococo y estudiadas hasta entonces, eran responsables del reconocimiento de la colina en el sustrato mientras que las regiones N-terminales contenían el centro activo de tales proteínas. Entre las aproximaciones experimentales que se emplearon para convertir la hipótesis en hecho científico cabe destacar la preparación de enzimas quiméricas activas entre las enzimas líticas de fagos y la amidasa del huésped que, paralelamente, traerían como resultado el intercambio de sus características bioquímicas [5].

Fue en 1990 cuando se publicó el primer análisis molecular de un fago atemperado de neumococo utilizando para ello una cepa lisogenizada con el fago HB-746. De estos estudios cabe destacar que el DNA aislado de las partículas maduras de estos fagos posee una proteína unida al DNA de forma covalente, lo cual representa la existencia de mecanismos moleculares que implican el desprenderse de esa proteína en su versión integrativa y recuperarla durante su ciclo lítico. La caracterización de este mecanismo constituye una línea de investigación que continúa abierta en nuestro laboratorio.

A lo largo de la pasada década se ha producido un decidido impulso en el estudio de los fagos en general y, así, ha cobrado actualidad, por un lado, la propuesta de que los fagos pueden ser usados con éxito como agentes terapéuticos, retomando como punto de partida el empleo que de los mismos se hizo durante décadas en la extinta URSS, pero, una vez que se introduzcan controles más estrictos en su uso clínico. La emergencia de bacterias patógenas cada vez más resistentes al arsenal antibiótico del que hoy se dispone convierte a este planteamiento en una propuesta alentadora según se ilustra en una reciente revisión [14]. Por otra parte, la original observación de Freeman en 1951 de que los fagos colaboraban a la virulencia de *Corynebacterium diphtheriae* [14], se ha visto documentada ampliamente por la constatación de que los fagos integrativos de numerosas bacterias Gram-positivas y Gram-negativas debían su virulencia al concurso de los genomas fágicos. Además, en el caso de neumococo, Mario Ramírez trabajando en el laboratorio de A. Tomasz ha llegado a la conclusión de que más del 70% de los aislados clínicos de esta bacteria poseen fagos atemperados [10] y aunque, en nuestra opinión, se trata de una sobrevaloración de la presencia real de genomas completos de fagos en el DNA del huésped, también hemos podido constatar la presencia de un gran número de fagos en el genoma de diferentes aislados clínicos de neumococo. En este prometedor panorama parece lógico que durante los años 90 hayamos centrado nuestro

trabajo en el estudio de los fagos atemperados. Así, y aprovechando la experiencia proporcionada por el análisis del fago HB-746 en el que se estableció, al igual que en el caso de Cp-1, la presencia de una proteína covalentemente unida al DNA y la alta similitud de la amidasa presente en este fago con la principal autolisina de neumococo [11], hemos sido capaces de aislar y caracterizar molecularmente un fago denominado MM1 aislado de la cepa multirresistente de serotipo 23F, cepa que se ha propagado a numerosos países del mundo [6]. MM1 (Figura de la portada, E) contiene un DNA bicatenario que ha sido completamente secuenciado y teniendo en cuenta que en 1997 ya se había secuenciado totalmente el fago lítico Cp-1 [7] se puede afirmar que ha sido en nuestro laboratorio donde se han determinado las primeras secuencias completas de los DNAs de fagos líticos y atemperados de neumococo.

La contribución de los fagos atemperados a la virulencia de neumococo es un tema prioritario de estudio en nuestro trabajo actual. Hasta ahora podemos afirmar que aún no ha podido establecerse de forma incontrovertible que los fagos caracterizados hasta el momento se comporten como fagos transductores. Como se ha puesto de manifiesto anteriormente, los genes líticos han merecido una especial atención en nuestro laboratorio. Así, además de su interés para establecer modelos de evolución modular de las proteínas, han permitido, después de largos años de investigación, delimitar con precisión, a través de la cristalización, la región de reconocimiento del sustrato (región C-terminal). Este planteamiento ha llevado a establecer el mecanismo molecular de unión de estas proteínas a la pared a través de la colina, mecanismo considerado como "único" para unir proteínas a las estructuras de la envuelta bacteriana.

Cada vez se acumulan más datos que demuestran que varias proteínas unidas a la pared de neumococo, y en particular aquellas que se anclan vía colina, se consideran como factores de virulencia. En efecto, LytA ha sido considerada desde hace años como uno de los principales factores de virulencia de *S. pneumoniae*. En este sentido la enorme flexibilidad que proporciona a la autolisina LytA y a las enzimas fágicas su estructura modular que facilita el intercambio entre los genes líticos presentes en el fago integrado y los de la célula huésped, invitan a pensar que, de esta forma tan elaborada, los fagos atemperados contribuirían a incrementar la virulencia de neumococo. Además, en estos momentos se estudian una serie de genes de MM1 que podrían, asimismo, contribuir de forma más directa al enriquecimiento del genoma de neumococo para sobrevivir en su hábitat natural en condiciones adversas.

En cuanto al uso terapéutico de los fagos en este patógeno humano se precisará, en los años venideros, del empleo de modelos animales de experimentación en los que se provoquen infecciones con neumococo para así analizar los efectos que producen el empleo de fagos *in vivo*. Como un primer paso en este sentido e inscrito en los estudios con enzimas líticas, cabe destacar los recientes resultados apuntados por Nelson y col. [9] sobre la capacidad que posee la amidasa de un fago de *Streptococcus pyogenes*, su principal autolisina, para prevenir y eliminar la colonización por esta bacteria del tracto respiratorio superior en animales de experimentación. Todo ello ha llevado a estos autores a denominar a este tipo de enzimas líticas como "enzibióticos".

Para terminar, deseamos dejar patente que después de 27 años de trabajo con los fagos de neumococo nos encontramos en el comienzo de una nueva y prometedora etapa de cara a futuras investigaciones que abarcan la elucidación del papel de los genes fágicos en la virulencia de *S. pneumoniae* y el empleo de los fagos, bien globalmente o a través del uso restringido de algunas de las proteínas codificadas por estos fagos, con fines terapéuticos. Qué duda cabe que cualquier resultado positivo en este sentido justificaría sobradamente el esfuerzo realizado durante estas casi tres décadas de dedicación al análisis de los fagos de neumococo. Al fin y la postre, como señalara Ovidio, "*quod nunc ratio est impetus ante fuit*".

### Agradecimientos

Son muchas las personas que, por méritos propios, deben figurar en este apartado. La visión siempre brillante de mi maestro el Prof. Alexander Tomasz acompañada de la persistencia de Concha Ronda y Maureen McDonnell permitieron la difícil visualización de placas infectivas y, por tanto, todos ellos merecen una rotunda consideración y agradecimiento en esta pequeña historia. Un apartado muy particular debemos a la tenacidad que mostró Concha en el manejo de los fagos Cp; sin ese empeño, la viabilidad de esa línea de trabajo habría resultado casi imposible. Las aportaciones de José L. García han proporcionado iluminadoras variantes experimentales que resultaron imprescindibles en muchos momentos. Las contribuciones de Alicia Romero, José María Sánchez-Puelles, Eduardo Díaz, Jesús Sanz, Ana C. Martín, Michel Sheehan, "Manu" Gindreau y, recientemente, de Virginia Obregón y Asunción Fenoll han prestado consistencia científica a los resultados conseguidos en los últimos diez años.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Avery OT, McLeod CM, McCarty M (1944) Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a deoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J. Exp. Med.* 79: 137-158.
2. Bernheimer HP (1977) Lysogeny in pneumococci freshly isolated from man. *Science* 195: 66-8.
3. García E, García JL, García P, Arrarás A, Sánchez-Puelles JM, López R (1988) Molecular evolution of lytic enzymes of *Streptococcus pneumoniae* and its bacteriophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 914-918.
4. García JL, Sánchez-Beato AR, Medrano FJ, López R (2000) Versatility of choline-binding domain. En: Tomasz, A. (ed) *Streptococcus pneumoniae*. Molecular biology & mechanisms of disease. Mary Ann Liebert, Inc., Larchmont, NY, pp. 231-244.
5. García P, Martín AC, López R (1997) Bacteriophages of *Streptococcus pneumoniae*: a molecular approach. *Microb. Drug Resist.* 3: 165-176.
6. Gindreau E, López R, García P (2000) MM1, a temperate bacteriophage of the type 23F Spanish/USA multiresistant epidemic clone of *Streptococcus pneumoniae*: structural analysis of the site-specific integration system. *J. Virol.* 74: 7803-7813.
7. Martín AC, López R, García P (1996) Analysis of the complete nucleotide sequence and functional organization of the genome of *Streptococcus pneumoniae* bacteriophage Cp-1. *J. Virol.* 70: 3678-3687.
8. McDonnell M, Ronda-Lain C, Tomasz A. (1975) "Diplophage": a bacteriophage of *Diplococcus pneumoniae*. *Virology* 63: 577-582.
9. Nelson D, Loomis L, Fischetti VA (2001) Prevention and elimination of upper respiratory colonization of mice by group A streptococci by using a bacteriophage lytic enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 98: 4107-4112.
10. Ramírez M, Severina E, Tomasz A (1999) A high incidence of prophage carriage among natural isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *J. Bacteriol.* 181: 3618-3625.
11. Romero A, López R, Lurz R, García P (1990) Temperate bacteriophages of *Streptococcus pneumoniae* that contain protein covalently linked to the 5' ends of their DNA. *J. Virol.* 64: 5149-5155.
12. Ronda C, López R, García E (1981) Isolation and characterization of a new bacteriophage, Cp-1, infecting *Streptococcus pneumoniae*. *J. Virol.* 40: 551-559.
13. Ronda C, López R, Tomasz A, Portolés A (1978) Transfection of *Streptococcus pneumoniae* with bacteriophage DNA. *J. Virol.* 26: 221-225.
14. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JJ (2001) Bacteriophage therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 649-659.
15. Tiraby JG, Tiraby E, Fox MS (1975) Pneumococcal bacteriophages. *Virology* 68: 566-569.

## ***Helicobacter pylori* y enfermedades extradigestivas**

**Carlos Martín de Argila**

Servicio de Gastroenterología. Hospital "Ramón y Cajal". Madrid.

E-mail: cmartindargil@hrc.insalud.es

*Helicobacter pylori* es una bacteria gram-negativa identificada por Warren y Marshall en Australia en 1983. Actualmente, nadie pone en duda que *H. pylori* desempeña un papel etiopatogénico fundamental en la gastritis y en la enfermedad ulcerosa péptica. La erradicación de este microorganismo no sólo consigue una curación y cicatrización más rápida de estas lesiones, sino que se acompaña de una drástica reducción en las tasas de recurrencia ulcerosa, logrando una disminución muy importante de los episodios de hemorragia digestiva, una clara mejoría de la "calidad de vida" de estos enfermos y un considerable abaratamiento del tratamiento de la enfermedad ulcerosa péptica en relación a los tratamientos antisecretores "clásicos". Por otra parte, diversos estudios han demostrado que la inflamación producida por *H. pylori* en la mucosa gástrica contribuye al desarrollo del adenocarcinoma gástrico; habiéndose relacionado también esta infección con el linfoma gástrico tipo MALT de bajo grado. La participación de este microorganismo en otras enfermedades digestivas como la dispepsia no ulcerosa, la enfermedad por reflujo gastroesofágico y el papel que *H. pylori* podría jugar como factor protector o favorecedor de las lesiones gástricas producidas por los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) continúan siendo actualmente temas de gran controversia.

Durante los últimos años se ha relacionado esta infección con otras enfermedades digestivas extraintestinales, así como con enfermedades extradigestivas, como son fundamentalmente la cardiopatía isquémica, ciertas enfermedades dermatológicas, enfermedades endocrinas y enfermedades inmunológicas, entre otras (Tabla 1). La posible participación de *H. pylori* en estas enfermedades no deja de ser un campo de investigación tremendamente atractivo y fascinante, que podría conducir a unas implicaciones verdaderamente revolucionarias en su manejo terapéutico en el caso de que se demuestre su participación.

### **Enfermedades vasculares y *H. pylori***

De entre todas las posibles manifestaciones extradigestivas de la infección por *H. pylori* éste ha sido probablemente el grupo de enfermedades más estudiado.

### **ENFERMEDAD ISQUÉMICA CORONARIA**

Desde hace años se ha venido investigando la posible participación de agentes infecciosos (responsables de infecciones de tipo crónico) en la enfermedad isquémica coronaria (EIC), habiéndose involucrado en este proceso tanto a agentes virales como bacterianos (citomegalovirus, herpesvirus, *Chlamydia pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, infecciones dentales, etc). Estos estudios provocaron que se especulase la posible participación de *H. pylori* -infección también de carácter crónico- en la EIC.

Mendall *et al.* en 1994 fueron los primeros en describir la existencia de una alta seroprevalencia de la infección por *H. pylori* en pacientes con cardiopatía isquémica. Este estudio inicial causó un gran impacto en la comunidad científica, lo que originó que se iniciasen numerosas investigaciones en esa misma línea de trabajo. Desde entonces, se han publicado en la literatura numerosos estudios epidemiológicos retrospectivos, y la mayoría de los resultados -aunque muy dispares

**Tabla 1.- Enfermedades extradigestivas relacionadas con la infección por *H. pylori*.**

- **Enfermedades vasculares**
  - Enfermedad isquémica coronaria
  - Accidente cerebro vascular
  - Fenómeno de Raynaud
  - Migraña
- **Enfermedades dermatológicas**
  - Urticaria crónica
  - Rosácea
  - Alopecia areata
  - Dermatitis atópica
  - Púrpura de Schönlein-Henoch
  - Síndrome de Sweet
- **Enfermedades autoinmunes**
  - Tiroiditis autoinmune
  - Síndrome de Sjögren
  - Artritis reumatoide
  - Púrpura trombocitopénica idiopática
- **Otras enfermedades extradigestivas**
  - Diabetes mellitus
  - Encefalopatía hepática
  - Anemia ferropénica idiopática
  - Retraso del crecimiento en niños
  - Muerte súbita del lactante

de unos a otros estudios- atribuyen riesgos relativos por encima de 1 para los pacientes infectados por *H. pylori*. Sin embargo, estos estudios presentan una serie de limitaciones metodológicas que han de ser tenidas en consideración en su análisis. Más recientemente han sido publicados en la literatura estudios epidemiológicos de tipo prospectivo, metodológicamente mejor planteados que los anteriores, y en ninguno de ellos se observan diferencias estadísticamente significativas entre la prevalencia de *H. pylori* en el grupo con EIC y el grupo control.

Desde el punto de vista fisiopatológico se han realizado varios estudios *in vitro* y en animales de investigación tratando de identificar el posible mecanismo patogénico a través del cual *H. pylori* pudiera estar relacionado con la EIC. *H. pylori* podría actuar a distancia -desde la infección crónica que produce durante décadas en la mucosa gástrica- sobre las paredes de las arterias coronarias mediante la activación de una respuesta crónica inflamatoria sistémica. En este sentido *H. pylori* comparte una propiedad muy importante con otros microorganismos involucrados con la EIC (*Chlamydia pneumoniae*, infecciones dentales); ser una bacteria gram-negativa y por tanto con lipopolisacáridos de membrana externa capaces de "disparar" una cascada inflamatoria en el huésped colonizado. Además, se ha demostrado en estudios *in vitro* que *H. pylori* es capaz de producir el denominado factor *paf-aceter* (potente mediador de la reacción inflamatoria a través de la inducción de la quimiotaxis y el aumento de la permeabilidad vascular en la microcirculación); en estudios *in vitro* e *in vivo* realizados en animales de experimentación se ha observado que extractos de *H. pylori* promueven la adhesión de los leucocitos polimorfonucleares a las células endoteliales y, además, se ha observado que *H.*

*pylori* promueve el aumento de las concentraciones séricas de reactantes de fase aguda (proteína C-reactiva, fibrinógeno y leucocitos), del factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ) y de diversas citoquinas. Sin embargo, no se descarta que el propio microorganismo pudiera actuar *in situ* sobre el endotelio vascular dañando la pared directamente o mediante una respuesta inflamatoria local, desencadenando el proceso de aterogenesis vascular. Recientemente, y a favor de esta acción directa del microorganismo, se ha detectado mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) DNA de *H. pylori* en placas de ateroma de arterias coronarias y en aorta.

Por otra parte, diversos estudios no han observado ninguna relación entre la infección por *H. pylori* y los llamados factores de riesgo "clásicos" de la EIC (hipertensión arterial, hiperlipemia, etc).

Hasta el momento carecemos de estudios de intervención en los que se pudiese demostrar un posible efecto beneficioso de la erradicación de *H. pylori* en el desarrollo de la EIC. Se sabe que algunos están en fase de realización, pero habrá que esperar todavía algunos años para conocer sus resultados.

#### FENÓMENO DE RAYNAUD

El fenómeno de Raynaud primario es un trastorno vascular funcional caracterizado por episodios intermitentes de vasoespasmo de las arteriolas distales de las extremidades (generalmente en las manos), que afecta fundamentalmente al sexo femenino y que suele desencadenarse con la exposición al frío o tras situaciones de presión emocional. La infección por *H. pylori* también se ha relacionado con este fenómeno, encontrándose en diversos estudios una elevada prevalencia de la infección en estos enfermos.

Se ha sugerido que la liberación de citoquinas, prostaglandinas, leucotrienos y de otras sustancias vasoactivas que pueden actuar a nivel de la circulación vascular periférica podría ser el mecanismo patogénico que explicase esta asociación. Sin embargo, esto no ha sido demostrado. Son aún anecdóticos los estudios que han investigado el efecto de la erradicación de *H. pylori* en personas con fenómeno de Raynaud.

#### MIGRAÑA

Es conocida la teoría vascular en la patogenia de la migraña. Esta teoría ha desencadenado la búsqueda de una posible relación de esta enfermedad con la infección por *H. pylori*. Los escasos estudios epidemiológicos realizados ofrecen prevalencias de la infección muy similares a las de la población general. No disponemos de resultados convincentes del efecto de la erradicación de este microorganismo en la curación de esta enfermedad.

**Carlos Martín de Argila** es Doctor en Medicina y Cirugía, con Premio Extraordinario de Doctorado y Especialista en Aparato Digestivo. En la actualidad tiene el cargo de Médico Adjunto del Servicio de Gastroenterología del Hospital "Ramón y Cajal" de Madrid. Es autor y editor de varios libros de la especialidad de Aparato Digestivo, y autor de más de 100 publicaciones en revistas nacionales y extranjeras, y de más de 150 comunicaciones en congresos nacionales y extranjeros.



Sus líneas actuales de investigación son la infección por *Helicobacter pylori*, la enfermedad ulcerosa péptica y la secreción gástrica.

## Enfermedades dermatológicas y *H. pylori*

Son probablemente el segundo grupo de enfermedades en las que más se ha estudiado una posible asociación con la infección por *H. pylori*.

### URTICARIA CRÓNICA

La urticaria crónica es una enfermedad dermatológica caracterizada por la aparición recidivante de habones en la piel durante al menos 3 meses, sin que se pueda identificar el alérgeno que a través de la degranulación de los mastocitos es el responsable del cuadro. Se piensa que ciertos inmunocomplejos circulantes pueden ser los desencadenantes de la urticaria crónica y en este sentido algunos investigadores han considerado la posibilidad de que *H. pylori* pudiera ser el origen de estos complejos.

Las prevalencias de la infección por *H. pylori* en pacientes con urticaria crónica observadas en los distintos estudios publicados son muy dispares, oscilando entre un 34% y un 80%, si bien la mayoría ofrece prevalencias menores del 60%.

Desde el punto de vista patogénico se ha postulado que la infección por *H. pylori* sería responsable de un aumento en la permeabilidad vascular gástrica, lo cual provocaría que la persona infectada estuviese expuesta a un mayor número de alérgenos alimentarios. También es posible que la estimulación inmunológica desencadenada por la infección crónica por *H. pylori* provoque, mediante la liberación de mediadores de la inflamación, una hipersensibilidad vascular dérmica inespecífica frente a un elevado número de alérgenos, fruto de un aumento de la permeabilidad vascular.

Al contrario de lo que sucede con otras enfermedades que se han tratado de relacionar con la infección por *H. pylori*, en el grupo de las enfermedades dermatológicas se han realizado diversos estudios de intervención estudiando el efecto que la erradicación tiene sobre estas patologías. En el caso de la urticaria crónica se han llevado a cabo varios trabajos en este sentido, con resultados prometedores en algunos casos, variando la proporción de curación completa de la enfermedad o mejoría importante entre el 13% y el 100%. Sin embargo, todos estos estudios carecen de grupo control, no están aleatorizados y no son ciegos.

### ROSÁCEA

La rosácea es una enfermedad dermatológica inflamatoria, de carácter crónico y de etiología desconocida, caracterizada por la presencia de pápulas, pústulas, eritema y telangiectasias de localización fundamentalmente facial.

Esta enfermedad dermatológica se la ha relacionado a menudo con la presencia de hipoclorhidria gástrica, gastritis y trastornos a nivel de la

mucosa intestinal del yeyuno. Se ha visto que, de modo similar a la enfermedad péptica ulcerosa, tiene un curso estacional. Pero además, se han ensayado con éxito tratamientos que emplean antibióticos, especialmente metronidazol y tetraciclina. Todos estos hechos han propiciado el que se haya considerado la posible relación etiológica de la infección por *H. pylori* con esta enfermedad dermatológica.

Los primeros estudios epidemiológicos que estudiaron esta posible asociación encontraron altas cifras de prevalencias de la infección por *H. pylori* (>80%) en pacientes con rosácea. Sin embargo, estudios más recientes y metodológicamente más correctos no han permitido observar diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de *H. pylori* en pacientes con rosácea y sus correspondientes controles.

Son muy escasos los estudios de intervención erradicando *H. pylori* en enfermos con rosácea y los resultados son contradictorios.

## Enfermedades autoinmunes y *H. pylori*:

### TIROTIDITIS AUTOINMUNE

Tradicionalmente se ha barajado diversas infecciones (tanto víricas como bacterianas) como posibles etiologías de la tiroiditis autoinmune. Se han descrito seroprevalencias altas de la infección por *H. pylori* en pacientes con tiroiditis autoinmune en relación a grupos control.

Desde el punto de vista etiopatogénico, se ha visto que los pacientes infectados por *H. pylori* poseen títulos más elevados de anticuerpos antimicrosomales y antitiroglobulina, existiendo además un incremento de tipo lineal entre los títulos de anticuerpos anti-*H. pylori* y los títulos de anticuerpos antimicrosomales. Estos datos hacen pensar que *H. pylori* puede ser responsable de provocar en estos pacientes una respuesta cruzada de tipo autoinmune frente al tejido tiroideo.

No se han publicado hasta el momento estudios de intervención terapéutica erradicando el microorganismo en estos pacientes.

### SÍNDROME DE SJÖGREN

El síndrome de Sjögren, caracterizado clínicamente por la presencia de xeroftalmia y xerostomía e histológicamente por la afectación de las glándulas exocrinas, con una infiltración plasmolinfocitaria que conduce a una destrucción y a la progresiva disminución de sus secreciones, se ha relacionado epidemiológicamente con la infección por *H. pylori*. En algunos estudios epidemiológicos se han encontrado tasas de prevalencia de esta infección más elevadas que la de los grupos controles. Sin embargo, estos datos no se han corro-

borado en investigaciones posteriores. La base etiopatogénica que pudiese explicar la asociación de la infección por *H. pylori* con este síndrome no es conocida. No disponemos de pruebas evidentes del beneficio de la erradicación en estos pacientes.

Se ha tratado de relacionar la infección por *H. pylori* con otras enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide y la púrpura trombocitopénica idiopática, pero los datos disponibles en la actualidad no son concluyentes.

### Otras enfermedades extradigestivas y *H. pylori*

Se han realizado diversos estudios tratando de investigar la existencia de una posible asociación entre la diabetes mellitus y la infección por *H. pylori*. Epidemiológicamente la prevalencia es baja en estos pacientes y aunque desde el punto de vista fisiopatológico se han descrito niveles más elevados de los títulos de anticuerpos anti-células parietales y anti-células de los islotes de Langerhans en los pacientes diabéticos infectados por *H. pylori* que en los no infectados, los escasísimos estudios de intervención que disponemos en la literatura no han observado que la erradicación de *H. pylori* influyera sobre el control de la diabetes y los requerimientos de insulina.

Recientemente han sido publicados en la literatura varios casos aislados, la mayoría en población pediátrica o en adultos jóvenes, en los que se describe una posible asociación de la infección por *H. pylori* con la anemia ferropénica. En estudios epidemiológicos más amplios los resultados son contradictorios. La infección por este microorganismo podría ser la responsable de pérdidas de hierro a través del tracto gastrointestinal como consecuencia de erosiones en la mucosa gástrica por la gastritis asociada a la infección. Por otro lado, *H. pylori* podría interferir en la absorción intestinal del hierro y podría incrementar las necesidades de hierro en las personas infectadas. Se han descrito casos aislados de mejoría de anemias ferropénicas de larga evolución en personas infectadas por *H. pylori* tras la erradicación del microorganismo; sin embargo, no existen hasta el momento series amplias de tratamientos en este sentido.

Ha sido también descrita la asociación de la infección por *H. pylori* y el retraso en el crecimiento en niños. Los distintos estudios epidemiológicos que han investigado esta posible asociación muestran datos contradictorios y probablemente

sean el nivel socioeconómico y los determinantes genéticos, más que la infección por *H. pylori*, los responsables de los hallazgos positivos en ese sentido.

Por último, también se ha relacionado a *H. pylori* con el síndrome de la muerte súbita del lactante. No existen tampoco hasta el momento datos fehacientes que apoyen esta asociación.

En resumen, hasta el momento tan sólo podemos hablar de indicios de asociación entre la infección por *H. pylori* y ciertas enfermedades extradigestivas. La EIC, la rosácea y la urticaria han sido las enfermedades más estudiadas. Son necesarios más estudios correctamente diseñados para poder llegar a determinar si realmente existe una asociación de la infección por *H. pylori* con las distintas enfermedades a las que se ha involucrado. En cualquier caso, es hoy por hoy clara y determinante (a la vista de los datos que disponemos) la no indicación de realización de terapias erradicadoras en enfermos con estas enfermedades por el hecho de estar infectados por *H. pylori*.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: Is there a link? *Lancet* 1997; 350: 430-436.
2. Danesh J, Peto R. Risk Factors for coronary heart disease and infection with *Helicobacter pylori*: Meta-analysis of 18 studies. *BMJ* 1998; 316: 1130-1132.
3. Gabarrini A, Massari I, Serrichio M, Tondi P, Sanz Torre E, De Luca A, *et al.* (1997) *Helicobacter pylori* and Raynaud phenomenon. *Gastroenterol. Int.* 10 (Supl.1): 18-19.
4. Di Campli C, Gasbarrini A, Nucera E, Franceschi F, Ojetti V, Sanz Torre E, *et al.* (1998) Beneficial effects of *Helicobacter pylori* eradication on idiopathic chronic urticaria. *Dig. Dis. Sci.* 43: 1226-1229.
5. Tosti A, Pretolani S, Figura N, Polini M, Cameli N, Cariani G, *et al.* (1999) *Helicobacter pylori* and skin diseases. *Gastroenterol. Int.* 1997; 10 (Supl.1): 37-39.
6. Howden CW. (1999) No evidence for an association between *H. pylori* and idiopathic chronic urticaria. *Dig. Dis. Sci.* 44: 485-486.
7. Martín de Argila C, Boixeda D. (2000) Manifestaciones extradigestivas de la infección por *Helicobacter pylori*. *Ciencia o ficción. Med Clin (Barc)* 114: 308-317.
8. Martín de Argila C, Boixeda D. (2001) Enfermedades extradigestivas relacionadas con la infección por *Helicobacter pylori*. En: Boixeda D, Martín de Argila C (Eds) *Infección por Helicobacter pylori ¿Más allá del límite?* Prous Science SA. Barcelona. pp 297-314.

## Arqueas en el plancton marino

Ramon Massana

Institut de Ciències del Mar, CSIC. Passeig Joan de Borbó s/n, 08039 Barcelona

E-mail: ramonm@icm.csic.es

El mar constituye uno de los hábitats más extensos del planeta y está poblado por una gran variedad de seres vivos. Los organismos que viven en suspensión en la columna de agua forman el plancton marino. El plancton microscópico más pequeño, el picoplancton (0.2 a 2  $\mu\text{m}$  de tamaño), constituye el componente numéricamente mayoritario (cerca de un millón de células por mililitro de agua de mar), y es clave en todos los ciclos biogeoquímicos que ocurren en el mar. La gran mayoría de células del picoplancton son procariontas de tamaño y forma remarcablemente similar. Sin embargo, se sabe que este grupo aparentemente homogéneo está formado por poblaciones diversas, cada una de ellas con un papel ecológico potencialmente diferente. La identificación de procariontas se ha basado tradicionalmente en la obtención de cultivos puros y su caracterización en el laboratorio, pero la gran mayoría de procariontas marinas parecen no ser cultivables [1]. Paralelamente al creciente reconocimiento del papel fundamental del picoplancton en el sistema marino, existía hasta hace poco un gran desconocimiento sobre qué especies lo formaban. Y ésta es una cuestión fundamental para entender como funciona el ecosistema y como podría reaccionar ante alteraciones ambientales.

Durante las décadas de los 60 y 70 se desarrollaron las bases de la taxonomía molecular. Según ésta, la comparación de secuencias de proteínas o ácidos nucleicos permitía elucidar las relaciones entre los seres vivos y establecer un sistema de clasificación filogenético coherente. Para comparar todos los seres vivos se utilizó el gen que codifica el RNA de la subunidad pequeña del ribosoma, rDNA 16S en procariontas y rDNA 18S en eucariotas. Esta molécula es universal, está estructural y funcionalmente conservada y su secuencia de bases es fácilmente alineable. Dicho análisis clasificaba todos los seres vivos en tres Dominios, dos procarióticos (bacterias y arqueas) y uno eucariótico. Pronto se reconoció la capacidad de la taxonomía molecular para identificar los microorganismos de la naturaleza sin necesidad de cultivarlos. Se trataba de extraer directamente el DNA de la comunidad microbiana, secuenciar dicho gen y comparar las secuencias obtenidas con las ya disponibles en las bases de datos. Uno de los primeros problemas que se abordó con esta aproximación fue el de la composición de bacterias en

el Mar de los Sargazos [7]. Los autores construyeron una biblioteca de genes rRNA 16S de bacterias y los resultados fueron espectaculares, ya que la mayoría de secuencias eran muy distantes a las de bacterias en cultivo. La dominancia en el plancton marino de bacterias no cultivadas hizo preguntarse qué ocurría dentro del otro grupo de procariontas, las arqueas.

Las arqueas cultivadas sólo crecen en condiciones extremas: alta temperatura, alta salinidad o anoxia. Es por ello que su presencia en el agua de mar, aeróbica y a temperatura templada, no era esperable. Sin embargo, en bibliotecas genéticas de muestras marinas se detectaron secuencias de rRNA 16S de arqueas [2]. Algunas secuencias, denominadas grupo-I, formaban un cluster dentro las crenarqueas, cuyos miembros cultivados son termófilos. Otras secuencias, denominadas grupo-II, formaban un cluster dentro las euriarqueas, cuyos miembros cultivados incluyen termófilos, metanógenos y halófilos. Las secuencias de arqueas marinas eran muy diferentes de las de arqueas cultivadas y se debían considerar, pues, pertenecientes a nuevos y desconocidos organismos. Desde el descubrimiento de las arqueas marinas se han realizado numerosos estudios para determinar su papel ecológico. Un importante esfuerzo, de momento sin éxito, se ha centrado en obtener algún representante en cultivo puro. Diferentes técnicas moleculares, independientes de los cultivos, han revelado detalles interesantes de este nuevo y apasionante grupo de microorganismos marinos.

¿Cuál es la abundancia de arqueas en el plancton marino? Claramente la respuesta a esta pregunta condicionará la relevancia de su papel ecológico. Mediante hibridación cuantitativa de rRNA extraído de muestras marinas se demostró que en aguas superficiales de la Antártida y en aguas profundas de sistemas templados el rRNA de arqueas podía constituir hasta el 30% del total [3]. Estos primeros resultados se complementaron con perfiles verticales en la costa del Pacífico [10], que demostraron que efectivamente la abundancia relativa de arqueas aumentaba con la profundidad, y en un muestreo más detallado en la Antártida, que reveló que la abundancia relativa de arqueas seguía un ciclo anual predecible, con valores altos durante el invierno y bajos durante el verano austral [12]. La presencia de arqueas en el

plancton marino se confirmó mediante hibridación *in situ* con sondas fluorescentes (FISH, *Fluorescent In Situ Hybridization*), técnica que además permitía visualizar la morfología de las células [12]. Se observó que la mayoría de arqueas marinas eran de vida libre y que no se podían diferenciar de las bacterias marinas por su tamaño y forma. En una estación del Pacífico se estimó por FISH que las arqueas eran muy abundantes por debajo la zona fótica durante todo el año, con números similares a las bacterias por debajo los 1000 m de profundidad [8]. Así pues, las arqueas marinas variaban espacial y temporalmente en abundancia y podían llegar a codominar, junto con las bacterias, en uno de los biomas más extensos de la tierra, el océano profundo.

La existencia de arqueas marinas se había basado en la detección de secuencias de rRNA, tanto en extractos de ácidos nucleicos como en células enteras. Pronto se detectaron otras señales moleculares que corroboraron estos resultados. En una biblioteca genética en la que se habían clonado directamente fragmentos de DNA marino se detectó un clon con el gen rRNA de arqueas de grupo-I. Este clon contenía además el gen del factor EF2, proteína también utilizada para establecer filogenias globales. El análisis filogenético a partir del gen EF2 confirmó la afiliación del clon dentro las crenarqueas [14]. Por otra parte, todas las arqueas cultivadas tienen lípidos de membrana diferentes de los de bacterias y eucarias, basados en un enlace éter del glicerol con un alcohol. En muestras marinas donde las arqueas que dominaban eran del grupo-I se detectaron moléculas derivadas de estos lípidos, en particular diferentes variedades cíclicas y acíclicas de bifitano que son características de arqueas termófilas extremas [4]. Se demostraba pues que las arqueas marinas compartían otras propiedades celulares, como los lípidos de membrana, con las arqueas cultivadas.

La primera descripción de arqueas marinas demostró la existencia de dos grupos filogenéticamente distantes [2]. Ambos grupos parecían ocupar diferentes profundidades de la columna de agua, ocupando nichos ecológicos diferentes. Así, en aguas costeras del Pacífico las arqueas de grupo-II dominaban en superficie, mientras que las de grupo-I dominaban en profundidad [10]. El análisis de bibliotecas genéticas de diferentes sistemas reveló el mismo patrón en otros sistemas templados, como el Mediterráneo y el Atlántico Norte [11]. En contraste, en aguas de la Antártida se detectaron casi exclusivamente arqueas de grupo-I, tanto en superficie como en profundidad. Las arqueas de grupo-I parecían ser siempre el

**Ramon Massana** es Licenciado y Doctor en Biología por la Universitat Autònoma de Barcelona, donde presentó su tesis en octubre de 1993. Su trayectoria investigadora se caracteriza por el estudio de la estructura de las comunidades microbianas que viven en



suspensión en lagos y océanos desde diferentes perspectivas, como las relaciones tróficas, la estructura de tamaños o la diversidad filogenética. Entre 1995 y 1997 realizó una estancia postdoctoral en el Marine Science Institute de la Universidad de California, Santa Bárbara (Estados Unidos) en el equipo del Dr. E.F. DeLong, donde se incorporó al estudio del papel ecológico de las arqueas marinas aplicando técnicas moleculares. Desde junio de 1997 trabaja en el Institut de Ciències del Mar (CSIC) de Barcelona como investigador contratado. Sus intereses actuales se centran en el estudio de la diversidad de los microorganismos marinos, bacterias, arqueas y eucarias, y la descripción de patrones espaciales y temporales de variación de dichos grupos en el mar. Ha participado en numerosos proyectos de investigación y en diversas campañas oceanográficas, y presentado sus resultados en revistas científicas internacionales de gran prestigio, como *Applied and Environmental Microbiology*, *Limnology and Oceanography* y *Aquatic Microbial Ecology*, y en diversos congresos científicos.

grupo dominante, a excepción de las aguas superficiales (primeros 40 metros) de sistemas templados. El análisis exhaustivo de estas bibliotecas también permitió investigar la presencia de nuevos linajes de arqueas marinas. Se detectó un nuevo grupo de euriarqueas, el grupo-III [5], que formaba una fracción muy minoritaria de clones en aguas muy profundas. Recientemente se ha descrito un cuarto grupo, perteneciente a euriarqueas, también recuperado a partir de muestras de plancton profundo [9].

Las secuencias recuperadas de arqueas marinas se relacionaban entre sí formando clusters, conjunto de secuencias parecidas pero suficientemente diferentes como para pertenecer a diferentes unidades taxonómicas. Esta microdiversidad es un fenómeno muy frecuente en comunidades naturales de microorganismos, y podría explicarse en parte por especies similares adaptadas a nichos ecológicos ligeramente distintos. El análisis filogenético de las arqueas marinas mostraba que alguno de los clusters dentro del grupo-I o del grupo-II contenía secuencias detectadas sólo en superficie o en profundidad [6,11]. La similitud entre clones venía pues más determinada por la profundidad de origen en la columna de agua que

por la proximidad geográfica. De hecho, clones obtenidos en muestras separadas por miles de kilómetros pero a la misma profundidad podían ser casi idénticos. En general, la diversidad de arqueas marinas era limitada. Es más, una sola población de arqueas del grupo-I parecía ser cosmopolita y dominar en sistemas tan distantes como el Mediterráneo, el Atlántico Norte, la costa del Pacífico y la Antártida.

Para explicar la presencia de arqueas en el plancton marino podrían plantearse diversas hipótesis. La primera es que son autóctonas del plancton aeróbico y crecen a partir de sustancias disueltas, como se considera que lo hacen la mayoría de bacterias marinas. La segunda es que crecen en microhábitats planctónicos anaeróbicos, como partículas en sedimentación o el sistema digestivo de animales, y cuando son liberadas al medio están inactivas. La tercera es que tienen un origen remoto, en lugares tales como surgencias hidrotermales submarinas, desde los cuales se dispersan en el plancton. La abundancia de arqueas marinas, así como la predictibilidad de su distribución y dinámicas espaciales y temporales, sugieren que son un componente autóctono del plancton. De hecho, algunos análisis moleculares han detectado crenarqueas en sedimentos marinos y de lagos y en suelos agrícolas y forestales, formando clusters emparentados con las crenarqueas marinas. Estas diferentes crenarqueas no termófilas parecen ser un componente activo de dichos sistemas. Pero la confirmación definitiva del estado activo de las arqueas en el plancton de aguas templadas y aeróbicas se presenta en un reciente trabajo en que se demuestra la incorporación de aminoácidos por las arqueas marinas [13].

Los resultados obtenidos durante los últimos diez años han revelado que las arqueas marinas son un componente esencial del sistema planctónico y que su abundancia y composición cambia según escalas espaciales y temporales identificables. Probablemente participen en diferentes ciclos biogeoquímicos, aunque su contribución es todavía desconocida, y se prevén diferentes papeles ecológicos para los dos principales grupos detectados. Las arqueas marinas más abundantes, las crenarqueas de grupo-I, parecen provenir de la adaptación de un antecesor termófilo a condiciones templadas y posterior colonización de diferentes hábitats, entre ellos la columna de agua de mar. Las líneas del futuro pasarán por la aplicación de nuevas e imaginativas estrategias de aislamiento para conseguir algún representante en cultivo puro, y de técnicas que permitan estudiar la actividad (o función) de los microorganismos *in situ*. Las arqueas marinas constituyen un

claro ejemplo de un grupo de organismos hasta hace poco totalmente desconocidos pero con una relevancia indiscutible en la naturaleza.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH (1995) Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59:143-169.
2. DeLong EF (1992) Archaea in coastal marine environments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5685-5689.
3. DeLong EF, Wu KY, Prézelin BB, Jovine RVM (1994) High abundance of Archaea in Antarctic marine picoplankton. *Nature* 371:695-697.
4. DeLong EF, King LL, Massana R, Cittone H, Murray AE, Schleper C, Wakeham SG (1998) Dibiphytanyl ether lipids in nonthermophilic crenarchaeotes. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:1133-1138.
5. Fuhrman JA, McCallum K, Davis AA (1992) Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature* 356:148-149.
6. García-Martínez J, Rodríguez-Valera F (2000) Microdiversity of uncultured marine prokaryotes: the SAR11 cluster and the marine Archaea of group I. *Mol. Ecol.* 9:935-948.
7. Giovannoni SJ, Britschgi TB, Moyer CL, Field KG (1990) Genetic diversity in Sargasso Sea bacterioplankton. *Nature* 345:60-63.
8. Karner MB, DeLong EF, Karl DM (2001) Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature* 409: 507-510.
9. López-García P, Moreira D, López-López A, Rodríguez-Valera F (2000) A novel haloarchaeal-related lineage is widely distributed in deep oceanic regions. *Environ. Microbiol.* 3: 1-8.
10. Massana R, Murray AE, Preston CM, DeLong EF (1997) Vertical distribution and phylogenetic characterization of marine planktonic Archaea in the Santa Barbara Channel. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 50-56.
11. Massana R, DeLong EF, Pedrós-Alió C (2000) A few cosmopolitan phylotypes dominate planktonic archaeal assemblages in widely different oceanic provinces. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1777-1787.
12. Murray AE, Preston CM, Massana CM, Taylor LT, Blakis A, Wu K, DeLong EF (1998) Seasonal and spatial variability of bacterial and archaeal assemblages in the coastal waters near Anvers Island, Antarctica. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:2585-2595.
13. Ouverney CC, Fuhrman JA (2000) Marine planktonic archaea take up amino acids. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:4829-4833
14. Stein J, Marsh TL, Wu KY, Shizuya H, DeLong EF (1996) Characterization of uncultivated prokaryotes: isolation and analysis of a 40-kilobase-pair genome fragment from a planktonic marine Archaeon. *J. Bacteriol.* 178:591-599.

# El rincón de la lengua

por Ricardo Guerrero y Mercè Piqueras, de la revista INTERNATIONAL MICROBIOLOGY

## DE FALSOS AMIGOS Y OTRAS CONTRADICCIONES

Es frecuente que diferentes lenguas tengan palabras muy parecidas, pero con distinto sentido; y en algunas ocasiones, incluso opuesto. En la jerga de la traducción estas palabras reciben el nombre de "falsos amigos". Como la información científica nos llega de forma predominante en inglés, no es raro encontrar falsos amigos en textos traducidos de esa lengua, o incluso en la comunicación habitual oral o escrita, aunque no sea producto de la traducción. Podríamos poner numerosos ejemplos, pero como "para muestra, basta un botón", indicaremos sólo algunos: *effective*, cuyo significado en español es **eficaz** más que efectivo; *emergency*, que en lenguaje médico corresponde a **urgencia** y no a emergencia; *evidence*, que es *prueba*, más que evidencia; *immune*, que en muchos casos es inmunitario (en este caso la confusión se produce porque el inglés no tiene un adjetivo equivalente; y atención, que inmunitario, inmune e inmunológico no son intercambiables). Hay casos en que los falsos amigos son muy peligrosos y es cuando el significado altera totalmente el sentido de la frase. Por ejemplo *eventually*, significa **finalmente**; *actually* equivale a **realmente, de hecho**, no a actualmente (para lo cual habría que utilizar "*currently*"); *billion* no es un billón, sino **mil millones**; *ingenuity* quiere decir **genialidad, ingenio**, no ingenuidad; etcétera.\*

En medicina hay un caso de falsos amigos en dos enfermedades infecciosas que ha sido causa reciente de confusión en la prensa y en otros medios de comunicación. Son el **carbunco** y el **ántrax**. La enfermedad que en inglés se llama *anthrax* corresponde a nuestro carbunco. Su agente etiológico es *Bacillus anthracis*. Por otra parte, la enfermedad que en inglés se denomina *carbuncle* corresponde a ántrax en español. También es conocida como avispero, y su agente etiológico es *Staphylococcus aureus*. El carbunco y el ántrax son dos enfermedades de etiología y sintomatología bien diferentes, aunque el origen de sus nombres sea muy parecido: *anthrax*, en griego, significa "carbón"; *carbunculus*, en latín, es el diminutivo de la misma palabra.

El recuadro contiene una breve lista de falsos amigos o de expresiones mal traducidas.

Esperamos que los lectores nos ayuden en esa búsqueda denodada de perlas que "ornan" la

*assist, to*: **ayudar**

*blue-green algae*: **cianobacterias** (su nombre antiguo en España es "algas azules", no "verde-azules"; conviene modernizarlo)

*code for*: / **codificar** (sin preposición)

*disorder*: / **transtorno**

*disposable*: / **de un sólo uso**

*dramatic*: / **drástico, espectacular, importante**

*ecologist*: / **ecólogo** (no ecologista)

*pest*: **plaga** (por tanto, plaguicida)

*physician*: **médico**

*plague*: **peste**

*preservative*: **conservante**

*probe*: **sonda**

*realize, to*: **darse cuenta**

*salvage*: **recuperación**

*silicon*: **sílice** (a veces se traduce por silicona, que en inglés es "silicone")

*substitute A for B*: **substituir B por A**

*sulphur* (Gran Bretaña) o *sulfur* (EE. UU.) / **azufre** (a veces se traduce por sulfuro)

selva espesa de la comunicación científica. Y, al iniciar este rincón, debemos advertir que quienes escribiremos en él no somos lingüistas, ni terminólogos, sino microbiólogos preocupados por la lengua. Nuestras opiniones pretenden más señalar una inquietud que sentar una doctrina. La lengua es un tesoro común, y como tal debemos vigilarlo y enriquecerlo. Y también debemos tener en cuenta que las lenguas evolucionan, por lo cual ahora hablamos castellano, y no todavía latín. En un medio camino entre la adaptación inmediata de la terminología foránea o de cualquier neologismo indiscriminadamente, y el conservadurismo extremo que impida el progreso de la lengua, está la virtud de ir cambiando e incorporando términos cuando sea necesario, sin olvidar que muchas veces nuestro tesoro común tiene recursos de los que echar mano. Y que no hay necesidad de pedir préstamos a otros bancos.

\* Siempre que podamos, recomendaremos un libro. Pongámoslos en nuestra biblioteca. No olvidemos echar mano de ellos al escribir de cualquier tema de ciencia. El de hoy es reciente. Tiene una gran calidad y es una herramienta imprescindible para la utilización correcta del lenguaje científico, no sólo en el campo de la medicina, como su título puede hacer creer:

NAVARRO FA. **Diccionario crítico de dudas inglés-español de medicina**. McGraw-Hill / Interamericana, Madrid, 2000. 576 pp. 5900 Pta.