BJOLOGS

Revista del Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid

2018 / CUATRIMESTRE I / NÚM. 43

Actividad de la Dalbavancina frente a los biofilms y sus patógenes Por Natalia Buenache Guenda

> Puesta en valor de las salinas Por Katia Hueso Kortekaas

Futuro de las ciencias y Tecnologías en Ámerica Latina Por Juan José Ibañez Martí

> El riesgo Biológio en el Cine Por Gonzalo Pascual Álvarez

PREMIO COBCM

Caracterización de subtipos moleculares de cáncer de colon

Por Sara Liorente Armijo

Director

Ángel Fernández Ipar

Consejo Editorial

Ángel Fernández Ipar Ma Isabel Lorenzo Luque Emilio Pascual Domínguez Juan E. Jiménez Pinillos Mar Pérez Calvo Pablo Refoyo Román Ma Isabel Marta Morales Lorenzo Vidal Sánchez Rafael Moreno Benito Rubén Álvarez Moreno Santiago Molina Cruzate

Colaboran

Amaia Barriocanal Santos María Teresa Torrijos Cantero

Dpto. de Comunicación

Orlando Ríos

Edita

Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid C/ Jordán, nº 8 28010 Madrid www.cobcm.net Telf. 91 447 63 75

Publicidad

COBCM cobcm@cobcm.net

Periodicidad

Cuatrimestral

ISSN: 1579-4350

Depósito legal

M-18322-2002

Maquetación

María Jesús Callejo

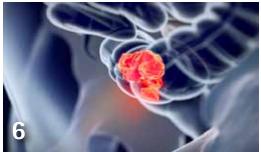
El COBCM no se responsabiliza de las opiniones vertidas en los artículos firmados o en las entrevistas.

La reproducción de cualquier parte de esta revista requiere la autorización previa de sus editores.













- Editorial
- 4 X Premio COBCM al Mejor Proyecto fin de carrera
- Caracterización funcional de los subtipos moleculares de cáncer de colon Por Sara Llorente Armijo
- Los Posibles Futuros de la Ciencia y la Tecnología en Iberoamérica

Por Juan José Ibañez Martí

- Actividad de Dalbavancina frente a los biofilms formados por diferentes fenotipos de MRSA y MRSE Por Natalia Buenache Cuenda
- 18 Noticias
- Señalización entre las células madre de la piel y el endotelio linfático

Por Alberto Díaz Jiménez

25 Del sistema ABO a los microsatélites: la evolución de la Genética Forense

Por Alejandra Tamayo Durán

- 30 Riesgo biológico en el cine
- 34 La puesta en valor de las salinas artesanales, un aliado para la biodiversidad

Por Katia Hueso Kortekaas

Editorial

La sociedad merece y precisa que **hablemos** colectivamente, globalmente, está en nuestra ética profesional

Ante todo, felicitar este nuevo año, uno más en la lucha por nuestra supervivencia, por nuestra identidad como biólogos y por nuestra profesión, a la que muchos otros aluden anteponiendo el término bio, haciendo suya parte de la nuestra identidad, o permitiéndonos hacer nuestra parte de la suya. Lo cierto es que ambas dan forma al profesional de nuestro tiempo. Loable es que cada uno defienda y quiera para sí el término bio y la convicción social suficiente para sobrevivir en el mundo laboral.

Las vías de aprendizaje conforman los perfiles que la sociedad precisa para resolver los problemas actuales ya globalizados. Además, los gobiernos, en su obligación, llevan a cabo, con pasmosa religiosidad, las evaluaciones, dictando normas con la intención de minimizar los problemas, pero, generalmente, adaptándose a los ciclos políticos y económicos a corto plazo (máxima rentabilidad en el mínimo tiempo o como va lo mío). Cada vez más, estos problemas son resueltos con pinzas, aumentando el riesgo de una ruptura de equilibrios que, cuando se produce en cadena, acaba en una catástrofe. El problema está en que hay grupos sociales a los que podemos llamar "dioses" que actúan con un individualismo extremadamente posesivo, a los cuales, políticos en el desarrollo de políticas y gobiernos en el desarrollo de sus normas, se encuentran sometidos y se dejan someter con el fin de no enfrentarse a las presiones o a los intereses económicos rápidos e individualistas. Intereses a los que la sociedad llega siempre a comprender con retraso.

Todos estamos de acuerdo en que por la holisticidad profesional, el biólogo no se encuentra fusionado en un frente común, en un grupo "dios", pero, ¿no es cierto que ecotónicamente nos encontramos enlazando unos conocimientos con otros, aportando una visión sumamente importante para que cada parcela social, económica o política mejore y avance en su fin? No debemos callarnos, la sociedad merece y precisa que hablemos colectivamente, globalmente, está en nuestra ética profesional.

Somos una institución que representa a un colectivo complejo, reflejo de la complejidad de los conocimientos que se adquieren a lo largo de los estudios que conforman al biólogo. La unión de nuestros profesionales, en toda su diversidad y con la palabra "biólogo", se hace acuciantemente necesario para defender nuestros intereses y validar nuestra participación social. Debemos asumir y actuar, en consecuencia, con la realidad holística del biólogo.

Así lo entiende el CGCOB, que se encuentra abordando dos figuras importantes: "biólogo sanitario" y "biólogo especialista en medio ambiente". En el próximo número descubriremos las estrategias que se están llevando a cabo para definir claramente ambos profesionales de la biología. Por ahora animaros a seguir unidos, os aseguro que se está peleando muy fuerte y que necesitaremos del apoyo de todos, colegiados y no colegiados. La suma de todos es lo que hace merecedora nuestra profesión. •



Ángel Fernández IparDecano del Colegio Oficial
de Biólogos de Madrid







Las ganadoras con sus diplomas, a la izquierda, Sara Llorente Armijo y a la derecha, Natalia Buenache Cuenda.

X Premio COBCM al Mejor Proyecto fin de carrera

Los galardones de la décima edición del Premio COBCM al Mejor Proyecto Fin de Grado, 2017, fueron entregados en diciembre pasado en la sede de la CEIM, destacando el alto nivel de los trabajos presentados.

Este premio, instituido por el Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid, ya es algo más que una tradición entre los graduados y el profesorado universitario. Se ha trasformado en una verdadera referencia del alto nivel de la enseñanza de Biología en la Comunidad de Madrid.

Los trabajos presentados suelen tener una profundidad y un alcance notables que anticipa lo que las diferentes especialidades lograrán de manera práctica en el futuro cercano. Anualmente son convocados los trabajos finales de grado de los alumnos de último curso de Biología, Bioquímica, Biotecnología, Ciencias Ambientales, Ciencias del Mar y Tecnología de los Alimentos.

La mesa de autoridades encargada de entregar los diplomas correspondientes estuvo integrada por (en orden alfabético), Carlos Sentís Castaño, Vicedecano de Personal Docente e Investigación de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid, María Teresa González Jaén, Decana de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid, Juan E. Jiménez Pinillos, Secretario de la Junta de Gobierno del COBCM, Mª Isabel Lorenzo Luque, Vicedecana 1ª del COBCM, y Santiago Molina Cruzate, Vocal de la Junta de Gobierno del COBCM.

Los galardonados 2017 fueron:

PRIMER PREMIO

Sara Llorente Armijo por el trabajo "Caracterización funcional de los subtipos moleculares de cáncer de colon". Grado en Biología Sanitaria. Universidad de Alcalá.

SEGUNDO PREMIO

Natalia Buenache Cuenda por el trabajo "Análisis Comparativo de la Actividad de Dalbavancina frente a los Biofilms formados por diferentes Fenotipos de MRSA y MRSE". Grado en Biología. Universidad Complutense de Madrid. FINALISTAS

Juan Manuel Santana Díez por el trabajo "Listas rojas de fauna y flora amenazada: Análisis de patrones taxonómicos y geográficos". Grado en Biología. Universidad Autónoma de Madrid.

Irene Hernández Pérez por el trabajo "Efecto de la actividad específica CRISPR/Cas9 en células tumorales de la granulosa ovárica". Grado en Biología. Universidad Complutense de Madrid.

Alberto Díaz Jiménez por el trabajo "Señalización entre las células madre de la piel y el endotelio linfático". Grado en Biología Sanitaria. Universidad de Alcalá.

Inés Garteizgogeascoa Suñer por el trabajo "La Ghrelina como hormona reguladora del metabolismo de carbohidratos en el hipotálamo". Grado en Bioquímica. Universidad Autónoma de Madrid.

Pablo Tabarés Sibille por el trabajo "Control genético de caracteres funcionales en poblaciones de Silene ciliata. Análisis de la variación interpoblacional: Buscando evidencias de adaptación local". Grado en Biología. Universidad Rey Juan Carlos.



En esta edición se han presentado un total de 48 TFG, de los cuales 16 fueron de alumnos de la Universidad Complutense de Madrid, 14 de la Universidad de Alcalá, 13 de la Universidad Autónoma de Madrid, 4 de la Universidad Rey Juan Carlos y 1 de la Universidad CEU San Pablo. Por titulaciones, 29 TFG son de Biología, 10 de Biología Sanitaria, 7 de Bioquímica y 2 de Biotecnología.

Como ya es costumbre, los integrantes de la mesa de autoridades, dirigieron algunas palabras a los premiados. María Teresa González Jaén, Decana de Biología de la UCM, destacó el alto nivel de preparación que ha quedado reflejado en los trabajos presentados y destacó las herramientas avanzadas que se emplearon en la realización de las investigaciones expuestas. Subrayó, asimismo, que el nivel de los graduados les permitiría salir al extranjero y desempeñarse al más alto nivel de los mejores países europeos en cada materia.

Refiriéndose al trabajo sobre biofilms de la segunda premiada, Natalia Buenache Cuenda, María Isabel Lorenzo Luque, Vicedecana 1ª del COBCM, señaló la trascendencia del estudio por las recurrentes infecciones sistémicas que se producen en el ámbito mecánico de la medicina con el empleo de catéteres, sondas y otros componentes en contacto prolongado con el cuerpo de los pacientes.

Carlos Sentís, de la UAM, destacó la proyección de futuro y el innovador carácter del trabajo ganador de Sara Llorente al emplear herramientas probabilísticas, estadísticas, bio Informática, Big Data y otros sistemas de acumulación y análisis de datos para encontrar nuevas herramientas de tratamiento para el cáncer de colon.

La Junta de Gobierno del COBCM agradeció a todos los alumnos su participación, destacando el alto nivel de los trabajos presentados y felicitó a los ganadores. Agradeció, igualmente, el esfuerzo realizado por los expertos que valoraron los proyectos.

Como ya es costumbre, los galardonados realizaron una presentación resumida de sus trabajos, destacando la claridad y el alto nivel de las exposiciones.

Antes de proceder a la entrega de los diplomas correspondientes los integrantes de la mesa de autoridades destacaron unánimemente la elevada preparación de los recientemente graduados y el poder benéfico para la sociedad de la profesión de Biólogo, por su flexible y generalista preparación que permite actuar en los distintos campos relacionados con la vida. •





Sobre estas líneas, María Teresa González Jaén, entrega su premio a Sara Llorente. Observan Mª Isabel Lorenzo Luque, Carlos Sentís y Juan E. Jiménez Pinillos. A la izquierda, Sara Llorente durante un momento de su exposición.





Sobre estas líneas, Carlos Sentís entrega su galardón a Natalia Buenache. A la izquierda, Natalia Buenache Cuenda durante un momento de su exposición.



Por Sara Llorente Armijo

1ª Premio COBCM al Mejor Trabajo Fin de Grado 2017

Tutores: Manuel Rafael Ramírez Chamond y Jaime Feliú Batlle

El cáncer colorrectal (CCR) es la neoplasia más frecuente del tubo digestivo. Supone el tercer tumor más comúnmente diagnosticado en el mundo y la cuarta causa de muerte por cáncer en ambos sexos. En 2012, se diagnosticaron en torno a 1,4 millones de nuevos casos y se registraron casi 700.000 muertes a causa de este cáncer a nivel mundial. Teniendo en cuenta los perfiles demográficos actuales y las proyecciones futuras, se espera un incremento del 60% tanto en la incidencia como en la mortalidad por CCR para el 2030, es decir, más de 2,2 millones de nuevos casos y 1,1 millones de muertes por CCR (Arnold, M., 2016). En España la situación es aún más alarmante, pues el CCR se posiciona como el primer cáncer más frecuente en el conjunto de mujeres y hombres, con 41.441 nuevos casos diagnosticados en 2015. Por sexo, tanto en mujeres como en hombres, el CCR es el segundo cáncer más diagnosticado, 16.677 y 24.764 casos respectivamente, precedido en mujeres por el cáncer de mama (27.747 casos) y en hombres por el cáncer de próstata (33.370 casos) (Galceran, J., 2017).

Por ello, el estudio en profundidad de este cáncer resulta fundamental para poder lidiar con estas altas tasas de incidencia futuras y proporcionar tratamientos efectivos que reduzcan la mortalidad por CCR.

Heterogeneidad y subtipos moleculares consenso

Desde hace años se sabe que el CCR es una enfermedad clínica y molecularmente heterogénea, y que esta heterogeneidad puede ser usada para estratificar a los pacientes en diferentes grupos y diseñar tratamientos personalizados. De hecho, en los años 90 Buffil estableció la primera clasificación de CCR en vista de la dis-

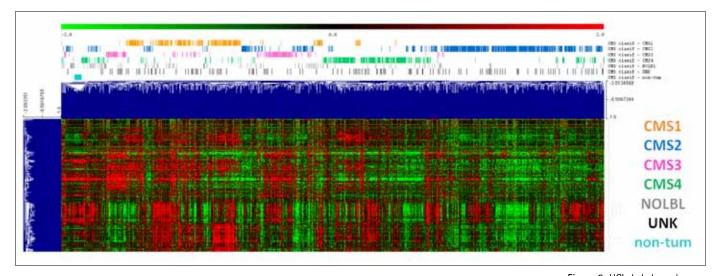
paridad de las características y respuestas clínicas del CCR en función de la localización del tumor: el grupo I o proximal cuando el tumor se localizaba en el lado derecho del colon, y el grupo II o distal cuando se localizaba en el lado izquierdo (Bufill, J. A., 1990).

Durante los últimos años, los avances en bio-

CMS1 MSI immune	CMS2 Canonical	CMS3 Metabolic	CMS4 Mesenchymal	
14%	37%	13%	23%	
MSI, CIMP high, hypermutation	SCNA high	Mixed MSI status, SCNA low, CIMP low	SCNA high	
BRAF mutations		KRAS mutations		
Immune infiltration and activation	WNT and MYC activation	Metabolic deregulation	Stromal infiltration, TGF-β activation, angiogenesis	
Worse survival after relapse			Worse relapse-free and overall survival	

Figura 1. Resumen de la distribución y principales características de los subtipos moleculares consenso (CMS) de cáncer colorrectal establecidos en el consorcio internacional (Guinney, J., 2015).





medicina —especialmente en el área de las ómicas— han permitido profundizar en la caracterización molecular del CCR y distinguir diferentes subtipos moleculares. No obstante, la ausencia de un procedimiento estándar para analizar este nuevo tipo de datos y determinar una clasificación de CCR definitiva, ha retrasado la translación de estos resultados a la clínica. Por ello, a finales de 2015, se creó un consorcio internacional, el CRCSC (Colorectal Cancer Subtyping Consortium), en el que se evaluaron y compararon los resultados de 6 clasificaciones independientes en un conjunto de 18 bases de datos, para finalmente establecer 4 subtipos moleculares consenso (CMS), cuyas características se resumen en la figura 1 (Guinney, J., 2015; Dienstmann, R., 2017).

Objetivo

El objetivo de este proyecto es analizar funcionalmente los cuatro subtipos moleculares consenso de CCR, empleando una herramienta innovadora como es la aplicación de modelos gráficos probabilísticos (Gámez-Pozo, A., 2015). Con ello se pretende profundizar en las diferencias moleculares que caracterizan a cada uno de estos subtipos, e identificar procesos biológicos y rutas de señalización diferencialmente regulados, con el fin último de proponer aproximaciones terapéuticas propias para cada caso.

Materiales y métodos

Se seleccionó la expresión génica de 1.433 muestras de pacientes con CCR procedentes de 7 bases de datos. La nueva base de datos creada por la combinación de estas 7 bases de datos anteriores fue procesada, y se seleccionaron

los 2.500 genes más variables.

Primeramente, se realizaron análisis previos de caracterización de nuestra base de datos: un clúster jerárquico (HCL: Hierachical Clustering) y una serie de análisis de expresión diferencial usando SAMs (Significance Analysis of Microarrays). En ambos casos se eligió la escala de color verde-rojo para la visualización de la expresión génica como un mapa de calor, cuyo rango va desde el verde puro para el valor más bajo pasando por el negro en el medio hasta el rojo puro para el valor más alto.

Una vez realizados los análisis previos se construyó el modelo gráfico probabilístico no dirigido a partir del cual se analizarían las características de cada subtipo con el fin profundizar en el conocimiento y diferencias entre éstos.

Resultados y discusión

CARACTERIZACIÓN PREVIA DE LA SERIE: HCL Y SAMS

El análisis de clúster jerárquico (HCL) mostró que la expresión de los 2500 genes más variables seleccionados era capaz de agrupar a la mayoría de los pacientes clasificados bajo el mismo subtipo molecular consenso en un bloque común (Figura 2).

Los análisis de expresión diferencial realizados enfrentando cada CMS al resto con el

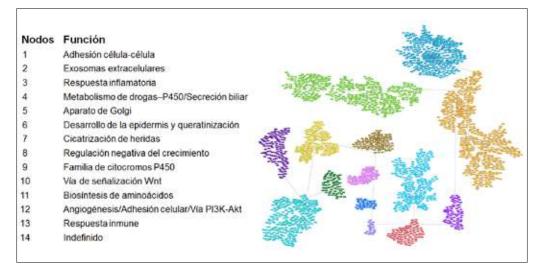
Figura 2. HCL de la base de datos de 2.500 genes y 1.433 pacientes. Cada columna representa un paciente y cada fila un gen.

Tabla 1. Funciones mayoritarias de la ontología génica asociadas a las listas de genes de baja expresión y alta expresión obtenidas por los análisis de expresión diferencial para cada CMS. Entre paréntesis se indica el número de genes significativos para cada SAM, y el número correspondiente para baja y alta expresión.

	Baja expresión	Alta expresión
CMS1	Vía de señalización Wnt (299)	Respuesta inmune (300)
CMS2	Respuesta inmune (413)	Vía de señalización Wnty EGFR (182)
CMS3	Adhesión celular, angiogénesis (362)	Vias metabólicas, colágeno (224)
CMS4		Adhesión celular, angiogénesis (400)



Figura 3. Modelo gráfico probabilístico con los 14 nodos delimitados y definidos funcionalmente como se indica en la leyenda de la izquierda.

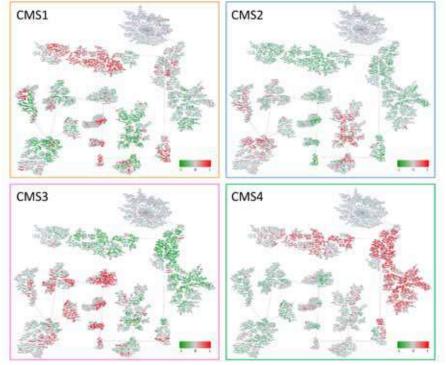


posterior estudio por ontología génica de los genes con alta y baja expresión significativamente diferentes para cada CMS, recalcaron las características propias de cada subtipo (Tabla 1). Estas características se correspondían con las ya definidas para cada subtipo por Guinney y colaboradores al establecer los subtipos moleculares consenso de CCR (Guinney, J., 2015).

MODELOS GRÁFICOS PROBABILÍSTICOS

Con el objetivo de descubrir nuevas características moleculares específicas de cada subtipo, en el presente estudio se aplicó una aproximación novedosa como son los modelos gráficos probabilísticos.

Figura 4. Expresión génica representada en el modelo gráfico probabilístico para cada uno de los CMS, apreciándose así las diferencias.



El modelo gráfico probabilístico se creó a partir de la base de datos de 1.433 pacientes y los 2.500 genes más variables. En los modelos gráficos probabilísticos cada caja se corresponde con un gen y las líneas unen genes correlacionados en base a los patrones de expresión génica a lo largo de la serie. Una vez confeccionado el modelo gráfico probabilístico, se delimitaron manualmente 14 nodos, cada uno de los cuales supone un conjunto de genes. Se realizaron análisis de enriquecimiento de ontología génica para cada conjunto de genes, identificándose así la función o las funciones mayoritarias predominantes para cada nodo, por las cuales fueron definidas como puede verse en la Figura 3.

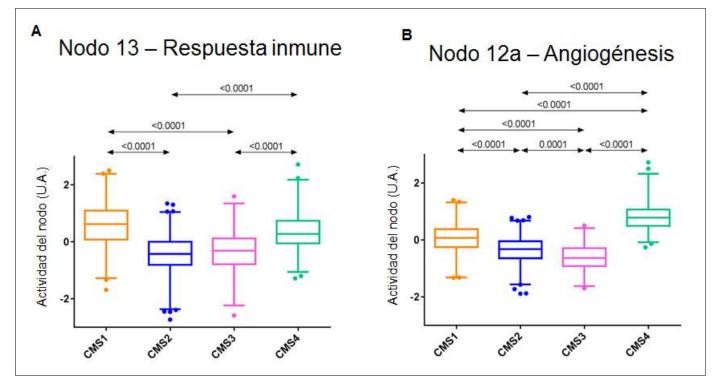
En este modelo gráfico probabilístico con los 14 nodos definidos funcionalmente se volcó el promedio de la expresión génica de cada CMS por separado, pudiéndose observar y comparar los diferentes patrones de expresión génica de cada subtipo organizados por nodos funcionales (Figura 4). Las diferencias entre los cuatro CMS se evaluaron a través del cálculo de la actividad funcional de cada nodo y su representación en diagramas de cajas con su correspondiente análisis estadístico.

A continuación, se destacan algunas de las características y diferencias más relevantes halladas en el modelo gráfico probabilístico y que complementan a las previamente descritas.

• Respuesta inmune

Los tumores CMS1 son buenos candidatos a inmunoterapias que favorezcan o intensifiquen la respuesta inmune por su alta inmunogenicidad e infiltración de células T. Sin embargo, como se aprecia en la red funcional el nodo inmune también muestra una alta expresión en





el CMS4 y la actividad funcional para este nodo es alta y no significativamente distinta con respecto al grupo inmune (Figura 5A).

A pesar de que el CMS4 presenta alta infiltración de células T citotóxicas (Becht, E., 2016) y alta expresión de genes inmunes como el CMS1, es el subtipo de peor pronóstico y menor supervivencia. Este mal pronóstico puede asociarse a que este tipo de tumores suelen diagnosticarse en fases más avanzadas (III y IV) (Guinney, J., 2015), pero también a la alta expresión de factores angiogénicos como VEGF, que tiene efectos inmunorreguladores (Ohm, J.E., 2001; Osada, T., 2008, Terme, M., 2013). Estos efectos inmunorreguladores explicarían la evasión del sistema inmune (SI) por el tumor, y podrían explicar el peor pronóstico del CMS4, ya que los tumores de este subtipo a pesar de tener una alta expresión de genes inmunes e infiltración de células T citotóxicas como el CMS1, también tienen una importante expresión de factores angiogénicos (Figura 5B), lo cual podría contrarrestar la respuesta inmune contra el tumor.

En los últimos años se ha observado que las estrategias terapéuticas con diana en VEGF pueden no sólo tener actividades propiamente anti-angiogénicas sino también mejorar la funcionalidad de la respuesta inmune contra el tumor. (Osada, T., 2008, Terme, M., 2013). Por tanto, los pacientes con tumores CMS4 podrían beneficiarse de la combinación de inmunotera-

pias con agentes anti-angiogénicos. El potencial de la combinación de estos dos tipos de terapias ha sido demostrado recientemente en un ensayo clínico en melanoma que combina el tratamiento de Ipilimumab (anti-CTLA4) con Bevacizumab (anti-VEGF). Esta combinación además de los efectos propiamente anti-angiogénicos, contrarresta las acciones inmunosupresoras de VEGF favoreciendo la efectividad de la inmunoterapia (Hodi, F.S., 2014).

Exosomas

Otra característica relevante que ha mostrado el análisis mediante modelos gráficos probabilísticos ha sido la alta expresión del nodo de exosomas (nodo 2) tanto en el CMS2 como en el CMS3. Los exosomas permiten la comunicación entre células a distancia, y esta vía parece ser aprovechada por los tumores para favorecer su crecimiento, progresión y diseminación (Zhang, H.G., 2014). Además, las mutaciones en el gen KRAS parecen inducir la transformación de células vecinas al alterar el perfil proteómico de los exosomas (Demory Beckler, M., 2013) y promover la progresión tumoral al alterar el perfil de microARNs favoreciendo o previniendo la exportación de ciertos microARNs en los exosomas (Cha, D.J., 2015).

Por lo tanto, el potencial proliferativo y metastásico de los tumores CMS2 y CMS3 podría relacionarse con estos exosomas. Además, el CMS3 se caracteriza por una alta presentación

Figura 5. Diagramas de cajas que comprara la actividad funcional entre los cuatro CMS para el nodo de respuesta inmune (A) y el nodo de angiogénesis (B). Las flechas indican una diferencia significativa entre grupos y el p-valor correspondiente en cada caso. U.A.: Unidades Arbitrarias.



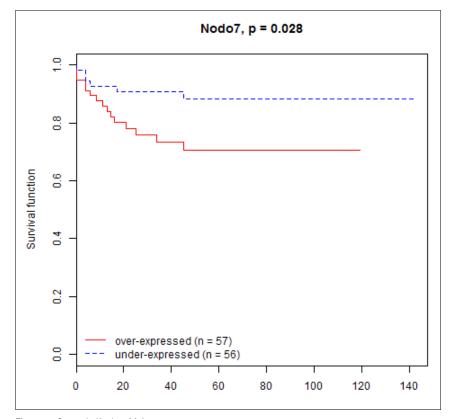


Figura 6. Curva de Kaplan-Meier representando la supervivencia para los pacientes del CMS3 en función de si presentan una alta actividad funcional del nodo 7 (en rojo) o una baja actividad funcional (en azul).

de mutaciones en KRAS (Guinney, J., 2015), las cuales como se ha mencionado se asocian con una alteración del perfil de proteínas y microARNs de los exosomas que favorece la progresión tumoral.

Familia de citocromos P450 y ruta de señalización Wnt

La familia de citocromos P450 (nodo 9) destaca por sobreexpresarse en el CMS2. Entre los citocromos incluidos en este nodo sobresale el citocromo 24A1 (CYP24A1), que es una enzima clave en el metabolismo de la vitamina D pues neutraliza el metabolito activo 1,25(OH)₂D₃, también conocido como calcitriol (Kosa, J.P., 2013), el cual tiene un efecto protector en el desarrollo del cáncer.

El CMS2 se caracteriza, además, por la sobreactivación de la ruta de señalización Wnt (Guinney, J., 2015), como también se aprecia en el modelo gráfico probabilístico (nodo 10). El calcitriol tiene un papel fundamental en la inhibición de la ruta Wnt canónica evitando así el desarrollo de cáncer (Pendas-Franco, N., 2008; Groschel, C., 2016; Feldman, D., 2014).

Por tanto, los nodos de la familia de citocromos P450 y de la ruta de señalización Wnt, que se encuentran próximos en la red, pueden estar relacionados y esta asociación mediada por la vitamina D, puesto que la sobreexpresión del CYP24A1 inhibiría la acción del calcitriol, lo cual conllevaría una desregulación de la ruta Wnt. En este subtipo de tumores, inhibidores del citocromo CYP24A1 podrían resultar eficaces al favorecer los efectos anti-tumorales del calcitriol como la regulación de la ruta de señalización Wnt.

• Familia de Factores Trefoil (TFF)

Por otro lado, se estudió si alguno de estos nodos tenía valor pronóstico para alguno de los subtipos moleculares consenso, encontrándose que el nodo e curación de las heridas (nodo 7) que de por sí tiene una expresión significativamente mayor en el CMS3 respecto al resto (p<0,0001), también tiene valor pronóstico para este subtipo, puesto que una sobreexpresión de éste se relaciona con una menor supervivencia (Figura 6).

En este nodo 7 destacan los genes TFF1, TFF2 y TFF3. La familia de factores trefoil (TFF) comprende un grupo de pequeños péptidos que desempeñan un papel fundamental en la protección y restitución epitelial de las superficies mucosas. Con este fin intervienen en una serie de procesos esenciales para la curación de las heridas como promover la migración, la angiogénesis, la proliferación celular y la resistencia al estímulo proapoptótico. Desafortunadamente, estos procesos necesarios para la curación de heridas también están estrechamente relacionados con la carcinogénesis (Kjellev, S., 2009). De manera que la elevada expresión de TFFs en los tumores CMS3 puede promover su progresión y relacionarse, por tanto, con la peor supervivencia de aquellos tumores CMS3 con alta expresión del nodo 7.

Conclusión

En el futuro se espera un incremento en la incidencia y mortalidad de CCR, por lo que es preciso conocer más en detalle esta enfermedad tan heterogénea para poder enfrentarse a ella.

En definitiva, en este estudio el análisis mediante modelos gráficos probabilísticos ha permitido aportar un conocimiento molecular relevante, que complementa a las características ya definidas al establecer la clasificación CMS y a las que se pueden obtener por los análisis convencionales de expresión diferencial. Además, esta mayor comprensión de la heterogeneidad tumoral y las características de cada CMS, posibilita incluso proponer nuevas estrategias terapéuticas específicas para cada subtipo. •



Programme for International Student Assessment

Los **Posibles Futuros** de la Ciencia y la Tecnología en Iberoamérica

Hace más de un al año se me invito a formar parte del comité científico de la Revista de la Facultad Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia. Seguidamente propuse una serie de tres ensayos que serán publicados hasta finales de 2018. Aproveché la ocasión para desempolvar mis antiguos conocimientos de bibliometría o cienciometría, y así conocer mejor la ciencia de ese continente que adoro.

En lugar de hacer uso de las estadísticas usuales que, en mi opinión, abundan en los detalles pero no clarifican adecuadamente la estructura del paisaje, es decir incurren en aquel refrán que dice "Los árboles no nos permiten ver el bosque", hice uso de otras habituales en los estudios de diversidad. Los resultados fueron bastante llamativos, a pesar de la escasez de datos proporcionados por los países de la región, muy inferior al de los países de la Unión Europea. Obviamente, lo que suele gustar al lector es identificar la posición de los Estados a los que pertenecen en el ranking regional v mundial. ¡Mal asunto!: "Mi país es mejor que...". Se trata de cifras que saborean los nacionalistas radicales de cada país y cuyas alegrías en Iberoamérica duran poco.

Básicamente, la producción científica de artículos de impacto, conformaba un ranking trivialmente sencillo, comandado por la extensión de cada país. Cuanto más Km² atesora un Estado, mayor población tenderá a albergar. Cuanto más elevado es el número de habitantes, más

ciudadanos accederán a los estudios universitarios, y como corolario, más Universidades habrá, como también instituciones Científicas. Finalmente, cuantos más académicos (especialmente si se calculan por millón de habitantes) se dediquen a la indagación investigadora mayor es el número de publicaciones científicas que colocará en las revistas denominadas de excelencia (base de datos Thomson-Reuters). Obviamente, el Producto Interior Bruto (PIB) de cada Estado, se encuentra correlacionado con el área y el tamaño poblacional de tales unidades territoriales. Lamentablemente en las bases de datos de la UNESCO no se disponía de otras variables de interés que hubieran ayudado a afinar los resultados. A pesar de ello, el patrón resultó revelador.

Cuando los pares de variables datos de los Estados se colocan en coordenadas cartesianas, la dispersión de los países respecto a la línea de regresión era enorme. Sin embargo, al transformarse logarítmicamente (ley potencial o función de potencias) se alineaban clarísimamente con un alto nivel de significación estadística. Resumiendo, los peces grandes se comían a los chicos, por lo que Brasil, encabezaba el ranking seguido secuencialmente por otros, según su tamaño del Estado. Existen di-

ferencias internacionales, pero menores de las que cabría esperar.

Resumiendo, no emergieron diferencias sustanciales, teniendo en cuenta que algún pequeño estado de Mesoamérica padecía de una masa



Por Juan José Ibañez Martí Centro de Investigaciones sobre Desertificación (CIDE CSIC-UVA), España. Dpto Ecología, Facultad de CC Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, España choloibanez@hotmail.com









de investigadores ínfima, menores que del MNCN, centro de investigación del CSIC en el que estoy ubicado. Nadie destacaba sobre el resto, siendo la indagación científica pobre a nivel internacional, cuando se comparaba cada país con los de otros continentes de área y/o población equivalentes. Difícilmente puede así despegar Iberoamérica hacia estados de mayor prosperidad y bienestar social.

Se ha debatido mucho en la literatura sobre acerca del importante papel de la docencia a todos los niveles, de la cultura digital, de las discriminaciones de género (en las que por cierto la región atesora indicadores muy positivos), la baja producción de patentes etc. Pues bien, si se compara el ranking de publicaciones científicas con los que ofrecen los Informes PISA (IP) sobre calidad educativa tampoco parecían existir correlaciones claras. Que la educación resulta ser clave para el progreso de un país es un asunto indiscutible, empero, tal hecho no significa que la toda poderosa EE.UU. sea en materia educativa, sea deplorable, como también ocurre en otros países con sistemas científicos potentes. Los aludidos IP dan buena cuenta de ello. Baste este ejemplo, ya que no hay espacio para debatir todos.

En lo referente a la tecnología, cierto que es que la producción de patentes es escasa y endógena. No obstante, acerca de este tema les recomiendo que busquen en Internet y lean la nota de prensa "¿De qué vive el MIT, una de las mejores universidades del mundo?. Y así se podrán leer frases como: "Las patentes solo suponen el 4% de los ingresos"; "este es el mismo margen de beneficio que obtienen muchas otras instituciones académicas (...) invertir en inves-

tigación e innovación no genera un gran beneficio económico para las mejores universidades e institutos tecnológicos del mundo" (...) "Siempre hemos hablado de impacto, no de ingresos", etc. Dicho de otro modo, seguimos haciendo énfasis en opiniones que no se encuentran avaladas por los datos.

Lo que no resulta productivo, y aquí coincido con otros expertos, es basar la economía en unos pocos recursos naturales abundantes en cada nación y cuyos precios fluctúan sobre manera, como han constatado los Estados petroleros, o dejarlos en manos de multinacionales foráneas. Aprovechar el oportunismo, mediante incentivos fiscales, para atraer a sus territorios compañías extranjeras de enorme importancia no ha dado frutos, por cuanto se desubican con tanta velocidad como se instalan, caso ocurrido en Costa Rica (Intel, Hewlett-Packard e IBM). Tampoco resulta razonable la enorme cantidad de universitarios que terminan sus estudios en ciencias sociales, en detrimento de los que obtienen sus títulos en ingeniería y ciencias experimentales.

¿Qué hacer entonces?: ¡una iniciativa fácil de entender y difícil de implementar por al exacerbado peso social y cultural de los nacionalismos!. Se trata de la instauración de una "Comunidad Iberoamericana de países" al estilo de la UE que, evite involuciones hacia dictaduras, garantice dilatadas democracias, intente evitar en la medida de lo posible desigualdades sociales, armonice sistemas educativos, cree centros supranacionales científicos de excelencia, etc. Y así, en otro diario, leía: "La región tiene un gran potencial (...). Integrada sería la quinta economía del mundo, por detrás de EE.UU., la Unión Europea, China y Japón. Se trata del dicho aprovechado perversamente por las multinacionales, que nos condujeron a la crisis económica mundial de 2007: "Too big to fail". Todos juntos, marcándose un objetivo y destino común, tal mancomunidad de países puede tener un enorme peso en cualquier negociación, ante el Banco Mundial, FMI, acuerdos de cooperación con terceros países, entidades geopolíticas del tipo UE., etc. Cada uno por separado, jamás. Finalmente, el estado de la ciencia y la tecnología en España y Portugal, antes y después de sus incorporaciones a la UE, que resulta ser muy ilustrativo. No éramos nada y ahora, aun a pesar de tal crisis... Lo dicho, "La Unión Hace la Fuerza", en ambientes geopolíticos y democrático estables colaborativos. De otro modo será imposible. La consolidación de una infraestructura científica demanda tiempo, estabilidad y cohesión. •



Attached Cell

Actividad de **Dalbavancina** frente a los biofilms formados por diferentes fenotipos de MRSA y MRSE

Los biofilms y sus patógenos asociados propiciasn infecciones sistémicas hospitalarias. El incremento de micro organismos MRSA hace necesario ensayos empíricos para el uso de antibióticos que los combatan.

Por Natalia Buenache Cuenda

Grado en Biología por la UCM, 2º clasificada del Premio COBCM al Mejor Trabajo Fin de Grado 2017.

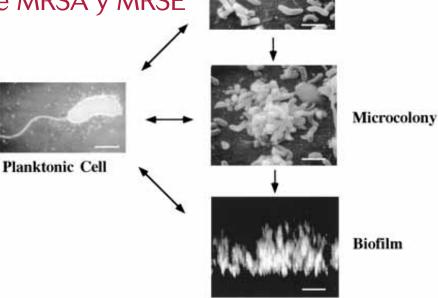


Figura 1. Watnick, P & Kolter, R. (2000). Estudio microscópico de las etapas en la formación de biofilm bacteriano desde individuo planctónico.

Los biofilms pueden formarse en superficies biomédicas como los catéteres, constituyendo una fuente potencial de patógenos, pudiéndose asociar con infecciones sistémicas. La participación de organismos resistentes, presenta además retos adicionales en el tratamiento. Por otra parte, el incremento de microorganismos MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) y MRSE (methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*) hace necesario realizar ensayos empíricos para el uso de antibióticos frente a estos microorganismos.

La capacidad de formar biofilms es una característica intrínseca en las bacterias. Éstas, en muchos ambientes forman comunidades de agregados celulares inmersas en un matriz hidratada de sustancias poliméricas extracelulares. Muchas especies microbianas son capaces de cambiar su forma de vida dependiendo de su estado fisiológico y las condiciones físico-químicas de su entorno (figura1), aprovechando la mayor disponibilidad de materia orgánica en partículas en suspensión y superficies. Así pues, existe una diferencia entre las bacterias sésiles que forman el biofilm y las células planctónicas. En comparación con la forma planctónica de vida, el comportamiento de los miembros del biofilm es radicalmente diferente, adquiriendo cierta

resistencia a una amplia variedad de tensiones ambientales, incluyendo resistencia a antibióticos, desecación, depredación y resistencia a la respuesta inmune del huésped. La matriz es la que le confiere fundamentalmente esas características de resistencia al actuar como una barrera de difusión de pequeñas moléculas que limita la penetración de nutrientes y, específicamente a la difusión restringida de antibiótico. Aunque la matriz no impida completamente la difusión de antibióticos a través del biofilm, pueden retardar su penetración, suficiente para inducir la expresión de genes que median resistencia u otros mecanismos de desactivación.

Los mecanismos que emplean las bacterias para formar biofilms varía, frecuentemente, dependiendo de las condiciones ambientales y de las características específicas de las cepas bacterianas (figura 2). El crecimiento del biofilm es normalmente representado como una serie de discretas etapas en un ciclo de vida. Se pueden distinguir tres pasos en la formación del biofilm: a) adherencia del microorganismo a la superficie; b) producción de la matriz extracelular, y c) desprendimiento de parte de la biocapa al medio (figura 3).

La importancia de estas estructuras radica en su incidencia en las infecciones bacterianas.



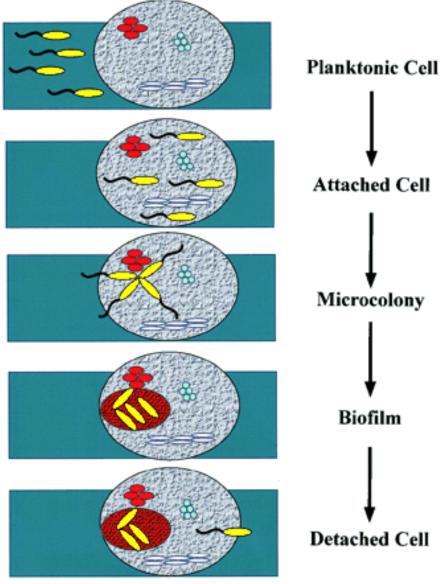


Figura 2. Watnick, P & Kolter, R. (2000). Representación esquemática de las etapas de formación de biofilm en una roca previamente colonizada.

Los microorganismos pueden formar biocapas sobre cualquier dispositivo inerte insertado a un paciente, como un catéter. Biofilms formados por estafilococos, en particular Staphylococcus aureus y Staphylococcus epidermidis, han sido reconocidos durante muchos años como los agentes patógenos más frecuentes en infecciones asociadas a catéteres. Estos biofilms son altamente resistentes a la acción de la respuesta inmune innata y adaptativa y a la acción de agentes antimicrobianos, desembocando en infecciones persistentes y fracaso del tratamiento. Muchas cepas de S. aureus producen un polímero de N-acetil glucosamina (PNAG) también denominado como polisacárido de adhesión intercelular (PAI), que permite a las células adherirse y colonizar diferentes superficies formando así biofilms. En S. epidermidis la propensión a causar este tipo de infecciones tam-

bién viene dada, en parte, por su capacidad de adherirse y proliferar sobre superficies inertes formando biocapas. El uso de catéteres intravasculares con uso médico ha incrementado en las últimas décadas y la infección de estos dispositivos por adhesión de bacterias y hongos a su superficie se asocia con una significante morbilidad y mortalidad, prolongados periodos de hospitalización, y un aumento de los costes derivados. Una vez se forman los biofilms sobre las superficies de dispositivos médicos, pueden resultar difíciles de erradicar y los procedimientos de retirada de los dispositivos infectados deben ser minuciosos. En estos casos deben considerarse estrategias preventivas o estrategias que resuelvan la infección asociada al catéter. Una estrategia alternativa para este tipo de infecciones es la denominada terapia del catéter cerrado, que consiste en mantener en contacto directo con la pared colonizada del catéter y durante un periodo de tiempo de horas o días, una solución altamente concentrada, efectiva en la eliminación de los biofilms formados. La efectividad de una gama de antibióticos, incluyendo vancomicina, daptomicina, y linezolid ha sido probada en terapias de sellado en pacientes con infecciones asociadas a catéteres debidas a S. aureus y S. epidermidis. Vancomicina es el tratamiento de elección de las CRBIs estafilocócicas, incluyendo las causadas por MRSA y MRSE. Vancomicina ha sido durante décadas el tratamiento anti MRSA utilizado, pero la aparición de diferentes fenotipos de sensibilidad reducida, ponen en riesgo su continuidad como tratamiento de choque. Frente a este inconveniente, daptomicina y linezolid se consideran tratamientos eficaces para el manejo de los pacientes en instituciones con alta prevalencia de cepas MRSA y MRSE. Otro fármaco alternativo es dalbavancina. Es un antimicrobiano lipoglicopeptídico y semisintético de acción prolongada y utilizada para el tratamiento de pacientes adultos con infecciones bacterianas aqudas de las estructuras cutáneas e infecciones de la piel causadas por bacterias grampositivas sensibles. Dalbavancina se caracteriza por tener una cadena lateral larga lipofílica que le permite dimerizar y anclarse en la membrana celular bacteriana, aumentando la estabilidad e interacción con peptidoglicanos bacterianos, teniendo lugar un efecto bactericida. Entre las bacterias grampositivas, la dalbavancina tiene un amplio espectro de acción contra la mayoría de microorganismos, incluyendo aquellos que son resistentes a otras familias de antimicrobianos, por lo que puede



resultar un buen antimicrobiano alternativo para cepas resistentes.

Objetivos e hipótesis

El objetivo principal sobre el que se pretende incidir en este trabajo es determinar la actividad de dalbavancina y comparadores frente a los biolfilms de cepas MRSA y MRSE desarrollados en dispositivos intravenosos de silicona. A partir de este concepto, se plantea determinar la existencia de una mayor eficacia de dalbavancina como agente antimicrobiano de elección frente a los biofilms formados por cepas MRSA y MRSE en comparación con los demás tratamientos ensayados.

Material y métodos

MUESTRAS Y ANTIMICROBIANOS EMPLEADOS EN EL ENSAYO

Las muestras utilizadas en el ensavo proceden de aislados clínicos de pacientes que presentaban infecciones sistémicas asociadas a catéteres y/o infección de piel y tejidos blandos. Se emplearon un total de 2 especies diferentes de grampositivos (S. aureus y S. epidermidis) distribuidos en 5 cepas (Tabla 1), 3 MRSA (SA 292, SA 213 y SA 223) y 2 MRSE (SE 42 y SE 50). Dalbavancina, daptomicina, linezolid y vancomicina fueron los antimicrobianos de elección. Se almacenaron a -70°C en forma de solución madre o stock hasta su uso. Las pruebas se desarrollaron con suplementos de 50 mg/L de calcio iónico para daptomicina y 0,002% de polisorbato para las de dalbavancina para evitar la adsorción de los antimicrobianos sobre la superficie de la placa.

FORMACIÓN DE BIOFILMS Y EXPOSICIÓN A ANTIMICROBIANOS

Los biofilms se formaron en la superficie de secciones de catéteres de silicona de 5 mm de diámetro. Las secciones calibradas de silicona se insertaron en las prominencias de tapas de policarbonato de 96 clavijas y posteriormente se depositaron en las correspondientes placas de microtitulación. Se procedió a incorporar un volumen de 150 μ l de los cultivos previamente estandarizados diluidos 1:10 a una placa de microtiter de 96 pocillos. Se utilizó para cada cepa un total de 8 pocillos; 6 pocillos correspondientes a las diferentes concentraciones de antimicrobianos ensayadas, 1 pocillo relativo al control de formación del biofilm (control positivo) y 1 pocillo con caldo estéril para el con-

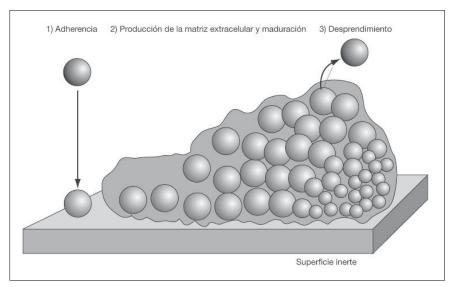
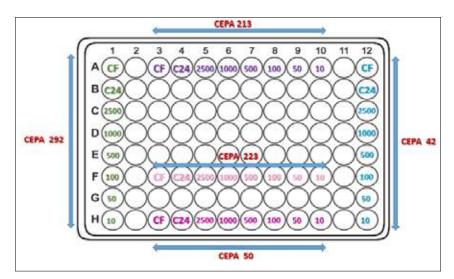


Figura 3. Vila, J. et al. (2008). Pasos implicados en la formación de una biocapa.

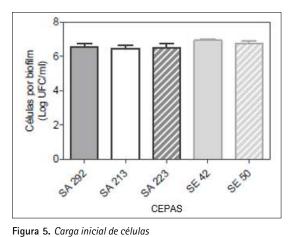


trol negativo o placebo (figura 4). Posteriormente las placas se incubaron durante 2 horas a 37°C y en agitación constante para facilitar la adhesión de las células a la superficie de los biomateriales. Trascurrido este tiempo las secciones de silicona se lavaron en dos ocasiones con PBS para eliminar las células no adheridas. Inmediatamente después, las tapas con las secciones insertadas se transfirieron a bases nuevas con caldo fresco durante 48 horas para la obtención de biofilms de maduración intermedia.

Tras la formación del biofilm, las secciones de silicona se lavaron nuevamente con PBS y se depositaron en bases que contenían un volumen por pocillo de 150 µl de los antimicrobianos diluidos a concentraciones de 0 (placebo), 10, 50, 100, 500, 1000 y 2500 mg/L (complementando con 5000 mg/L en la última prueba). El sistema se incubó a una temperatura de 37°C durante un periodo de 24 o 48

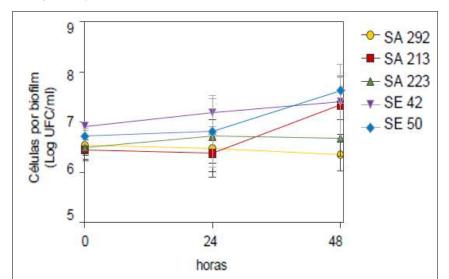
Figura 4. Modelo de plantilla utilizada para la inoculación de las cepas de estudio (292, 213, 223, 50 y 42) en las placas de microtiter con base redondeada (forma de U). Control de formación (CF); control a 24 h (C24); tratamientos en mg/L (2500, 1000, 500, 100, 50, 10).





en los biofilms formados por las cepas MRSA y MRSE. Se representa (en log 10) la media y desviación estándar de las células viables cuantificadas en cinco días diferentes (diez secciones).

Figura 6. Evolución media de la carga de células de los biofilms con la exposición a placebo. Staphylococcus aureus (SA), Staphylococcus epidermidis (SE); Log células productoras de biofilm por ml (Log UFC/ml).



horas. Los antimicrobianos se reemplazaron cada 24 horas.

CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBIOFILM

La cuantificación de la actividad antibiofilm se realizó mediante el recuento diferencial de las células viables que formaron los biofilm antes y después del tratamiento anti-

microbiano. Un número negativo indicó reducción en la carga de células en los biofilm por efecto del tratamiento administrado. A partir del análisis se estableció comparativamente para los diferentes antimicrobianos la dosis mínima que es necesaria para conseguir un efecto equivalente a una reducción de 1, 2 o 3 unidades logarítmicas en el recuento de células viables. Para ello las células se liberaron desde los biofilms aplicando ultrasonidos. Entonces, las secciones de catéter lavadas se retiraron asépticamente desde las prominencias de las tapas y se incorporaron en tubos eppendorf con un volumen de 300 µl de solución salina fría. Los tubos se sonicaron a 37.000 Hz a una temperatura de 15°C durante 10 minutos y posteriormente se agitaron en vórtex durante 1 minuto adicional. Todas las muestras fueron diluidas convenientemente y sembradas utilizando como técnica la siembra por dilución en vista del crecimiento obtenido y para facilitar así el recuento de UFC. La formación y cuantificación de los biofilm se realizó entre 3 y 5 repeticiones en días diferentes.

Resultados

CUANTIFICACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOFILM

Los resultados obtenidos en el estudio establecen que la carga inicial de células en los biofilms formados en las secciones de silicona después de 48 horas de incubación osciló para todas las cepas entre 2,7x10⁶ y 8,2x10⁶ UFC/ml. Se observa además que, la variación en la carga de células entre las diferentes cepas y especies y entre pruebas fue insignificante (**Fig. 5**).

EXPOSICIÓN A LOS ANTIMICROBIANOS

La exposición a placebo no originó cambios significativos en el número de células inicialmente cuantificadas en los biofilms. Tras 24 horas de incubación el número de células en los biofilm fue idéntico o aumentó levemente con respecto a los recuentos iniciales para todas las cepas estudiadas (Fig. 6). En cambio, la exposición a los antimicrobianos redujo sustancialmente y de forma general, la carga de células presentes en los biofilms. La reducción de células en los biofilms fue, además, dependiente del agente antibacteriano expuesto y aumentó proporcionalmente con el tiempo y la concentración ensayada. Se considera una reducción de 1, 2 o 3 unidades logarítmicas en el recuento de células viables, indicando un número negativo una disminución en la carga de células en los biofilms por efecto del tratamiento administrado. De este modo, una reducción de una unidad logarítmica supone un decrecimiento del 90%; 2 unidades logarítmicas, el 99% y 3 unidades logarítmicas el 99,9% del crecimiento de las células del biofilm. Es así que, la actividad antibiofilm de dalbavancina fue superior a la de daptomicina a dosis de 2.500 y 5.000 mg/L con independencia del tiempo de exposición, y muy superior a vancomicina y linezolid con independencia de la dosis aplicada y del tiempo de contacto (Tablas 2a-2b). Se observa mayor efecto en las cepas SE, con una reducción de más de 3 unidades logarítmicas. La prolongación del contacto hasta las 48 horas incrementó la actividad en todos los casos con dalbavancina. Esta actividad se representa comparativamente para ambos periodos de exposición (Fig. 7). La dosis expuesta se relacionó positivamente con la actividad antibiofilm de dalbavancina. Además, las dosis necesarias para alcanzar reducciones de 1, 2 o 3 unidades logarítmicas en la carga de células de los biofilms, fue muy inferior para



			ME	tsa.				MF	SE	
	SA	292	SA 2	113	SA 2	223	SE	42	SE !	50
Dosis (mg/L)	media	+/-								
5.000	-2,54	0,52	-2,94	0,50	-2,37	0,22	-3,55	0,39	-3,18	0,13
2.500	-2,41	0,66	-2,83	1,08	-2,38	0,32	-3,51	1,24	-3,09	1,23
1.000	-2,22	1,35	-2,30	1,12	-2,02	0,44	-2,67	0,75	-2,83	0,43
500	-2,38	1,32	-2,21	0,82	-2,15	0,77	-2,39	0,41	-2,60	0,67
100	-2,04	1,39	-2,40	0,81	-1,84	1,33	-1,95	0,24	-2,73	0,79
50	-1,62	0,86	-2,06	0,47	-1,97	1,17	-1,98	0,20	-1,87	0,52
10	-1,27	0.36	-1,56	0,52	-1,46	0.91	-1.71	0,36	-1,50	0,65

Tabla 2a. Reducción media (+/- desviación estándar) de la carga de células en los
biofilms, tras exposición de 24 horas a diferentes concentraciones de dalbavancina.

		MRSA						MRSE			
	SA	292	5A 2	13	SA 2	23	SE	42	SE	50	
Doses (mg/L)	media	+/-									
5.000	-3,67	0,74	-3,43	0,58	-3,45	0,23	-4,27	0,20	-3,89	0,66	
2.500	-3,51	0,65	-3,25	0,31	-3,34	0,69	-4,27	0,53	-3,21	1,16	
1.000	-3,22	1,75	-3,16	1,01	-2,79	1,07	-3,96	0,98	-3,71	1,18	
500	-2,51	1,33	+3,06	0,58	-2,80	0,25	-3,08	0,63	-3,45	1,07	
100	-2,34	0,50	-2,64	0,32	-3,19	0,64	-3,40	0,46	-2,76	0,83	
50	-2,65	0,23	-2,44	0,09	-2,62	0,57	-3,59	0,75	-2,87	0,88	
10	-2,08	0,67	-2,00	0,38	-1,92	0,85	-2,16	0,73	-1,63	0,1	

Tabla 2b. Reducción media (+/- desviación estándar) de la carga de células en los biofilms, tras exposición de 48 horas a diferentes concentraciones de dalbavancina.

dalbavancina en relación con daptomicina, vancomicina o linezolid (Tabla 3). Es así que, dosis mínimas de 150 mg/L de dalbavancina logran reducciones de 3 unidades logarítmicas para las cepas MRSA y aún menos concentración, 40 mg/L, para las MRSE. Dalbavancina es el agente antimicrobiano que más decrecimiento ha causado en las células del biofilm en todas las cepas, independientemente de la especie, pudiendo ser un antimicrobiano efectivo frente a los biofilms formados por MRSA y MRSE, en comparación con el efecto antibiofilm de los demás tratamientos ensayados (Fig.8). Sin embargo, ninguno de los antimicrobianos consiguió erradicar los biofilms formados en las superficies de los catéteres de silicona a las dosis máximas y tiempos de exposición ensavados. La máxima reducción, no obstante, fue de 4 unidades logarítmicas o del 99,99% del total de células viables del biofilm.

Conclusiones

- Dalbavancina demuestra una excelente actividad frente a los biofilm de maduración intermedia formados por cepas de MRSA y MRSE incluyendo a organismos con una reducida sensibilidad a vancomicina y linezolid.
- 2. La eficacia del tratamiento con dalbavancina, y comparadores, aumenta con la repetición de los ciclos de tratamiento.
- **3.** La eficacia de dalbavancina es fuertemente dependiente de la dosis. El análisis dosisrespuesta revela que muestra mejor relación coste-efecto que el resto de tratamientos.
- 4. La actividad de dalbavancina es, comparativamente, más independiente de la especie y de la cepa estudiada que el resto de antimicrobianos ensayados. De esta forma los criterios de predicción de actividad obtenidos con los análisis dosis respuesta serían de utilidad para su administración empírica.

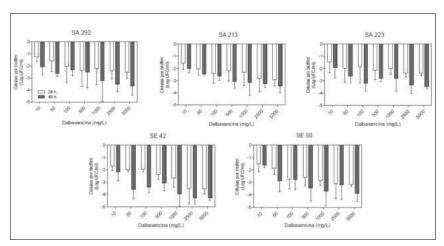


Figura 7. Comparación de la actividad antibiofilm de dalbavancina tras 24 y 48 horas de contacto con las superficies colonizadas, a concentraciones de 10, 50, 100, 500, 1.000, 2.500 y 5.000 mg/L.

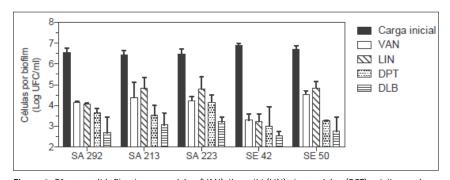


Figura 8. Efecto antibiofilm de vancomicina (VAN), linezolid (LIN), daptomicina (DPT) y dalbavancina (DLB) frente a MRSA y MRSE empleando dosis de 5.000 mg/L tras una exposición de 48 horas.

Efecto diana	Vancomicina	Linezolid	Daptomicina	Dalbavancina
(log UFC/ml)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)
MRSA				
-1	2.694	749	3	4
-2	>5.000	>5.000	10	12
-3	>5.000	>5.000	>5.000	150
MRSE				
-1	1.208	30	3,5	4
-2	4.002	607	11	12
-3	>5.000	>5.000	133	40

5. Comparativamente, dalbavancina es una opción más eficaz que daptomicina, vancomicina y linezolid en la terapia de cierre del catéter, aunque a las dosis máximas ensayadas no consigue erradicar la colonización de los catéteres de silicona.

Tabla 3. Dosis necesaria para conseguir efectos antibiofilm sobre las cepas MRSA y MRSE equivalentes a una reducción en la carga de los biofilm de 1, 2 o 3 unidades logarítmicas.

Noticias

Olimpíadas de Biología de la Comunidad de Madrid 2018

El Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de

Madrid convoca la XVI Olimpiada de Biología de la Comunidad de Madrid (OBCM) para fomentar entre el alumnado de enseñanza secundaria el interés por la Biología y por las innovaciones científicas que se producen en esta disciplina La fecha de celebración se ha establecido para el viernes 23 de febrero de 2018 en la Universidad de Alcalá, Facultad de Biología, Ciencias Ambientales y Química.

Los alumnos ganadores de la categoría de Bachillerato representarán a nuestra Comunidad en la Olimpiada Española de Biología (OEB) que tendrá lugar del 12 al 15 de abril de 2018 en Badajoz.

Los alumnos de la categoría A, de segundo de bachillerato, participarán a título individual.

Los alumnos de la categoría B, de 4º de ESO, formarán equipos de tres estudiantes por centro.

Categoría A: La prueba teórica consiste en un cuestionario de 50 preguntas tipo test. Los contenidos están relacionados con el currículo de las asignaturas de Biología y Geología (sólo contenidos de Biología) de 1º de Bachillerato y Biología de 2º de Bachillerato. Aproximadamente el 10 % de las preguntas



Alumnos durante uno de los exámenes de la Olimpíada Madrileña de Biología 2017.

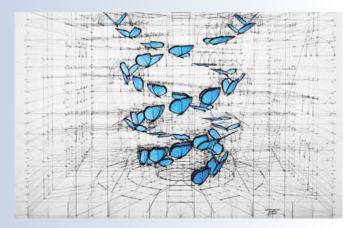
harán referencia al temario de 1º de Bachillerato y el 90 % restante al de segundo.

Los diez alumnos mejor clasificados de esta categoría, participarán en una prueba práctica de carácter selectivo, consistente en una práctica de Microbiología y otra de Genética, que tendrá lugar el viernes 2 de marzo de 2018 en la Facultad de Biología, Ciencias Ambientales y Química de la Universidad de Alcalá, en horario de tarde.

Categoría B: La prueba consiste en la resolución de un cuestionario de 30 preguntas tipo test. Las preguntas estarán relacionadas con contenidos básicos de Biología del currículo de toda la etapa de la ESO.

La entrega de premios se realizará el 6 de abril de 2018 en la Universidad de Alcalá.

Geometría en la Naturaleza, y el número áureo phi, muestra del MNCN



Las obras de Rafael Araujo, autor de la exposición realizada por el Museo Nacional de Ciencias Naturales, incluyen

imágenes de mariposas y gasterópodos desarrolladas a partir de un minucioso estudio geométrico. Bajo el título de "El número áureo Phi" y con imágenes surgidas de la precisión del cálculo y del trazado del pintor venezolano Rafael Araujo, se representan situaciones hipotéticas de vuelos de mariposas o torsiones de conchas de gasterópodos, entre otras, que dan lugar a bellas composiciones matemáticas de colores delicados. La exposición se podrá visitar hasta el 31 de marzo de 2018.

Las obras de Rafael Araujo, autor de la exposición, incluyen imágenes de marinosas

y gasterópodos desarrolladas a partir de un minucioso estudio geométrico.

2° Premio UICM a La Divulgación Colegial

La Unión Interprofesional de la Comunidad de Madrid (UICM) ha convocado a la segunda edición de su Premio a la Divulgación Colegial. Está reservado a profesionales miembros de Cole-

gios vinculados a la UICM, quienes podrán presentar un artículo ensayo o libro sobre las tareas y ejercicio de las profesiones. Dicho trabajo tendrá que haberse publicado durante el año 2017. El plazo para presentar candidaturas vence el 31 de marzo de 2018. El ganador obtendrá un diploma de reconocimiento y 800 euros.



ASOCIACIÓN DE COLEGIOS PROFESIONALES

Noticias

Encuesta: situación de la Prevención de Riesgos Laborales en la CM

En mayo de 2017, Unión Interprofesional de la Comunidad de Madrid (UICM), a través de su Comisión de Prevención de Riesgos Laborales y en el marco de colaboración en dicha materia con la Comunidad de Madrid, lanzó una Encuesta online sobre Salud Laboral dirigida a los profesionales de Madrid . El trabajo de investigación y análisis de los resultados obtenidos a través de este estudio ha sido llevado a cabo por el Colegio Profesional de Politólogos y Sociólogos de la Comunidad de Madrid, miembro de UICM.

La Encuesta ha contado con una excelente acogida por parte de los profesionales, ya que se había fijado un mínimo de 600 encuestas y se ha alcanzado la cifra de 3.541 encuestas respondidas válidas, gracias a la colaboración de los Colegios Profesionales que integran UICM, entre ellos el COBCM.

A través de la misma, se han analizado aspectos como el estado de la información, formación y campañas preventivas; el conocimiento de la evaluación de riesgos, Plan de Prevención, Comité de Seguridad y Salud y delegados de prevención; el conocimiento de la organización en materia de PRL; el estado de actuaciones específicas en PRL; la percepción de peligros y de riesgos, la efectividad de medidas para cumplir la normativa o los motivos por lo que no es eficaz la PRL.

El 62,2% de los trabajadores señala que ha sido informado de los riesgos a los que está expuesto en su puesto de trabajo y de las medidas preventivas para evitarlos o que el 57% indica que dispone o puede acceder fácilmente a información y contenidos de prevención de riesgos laborales.

Asimismo, de la encuesta se desprende también que los trabajadores del sector privado están más informados sobre los riesgos existentes en su puesto de trabajo (66,3%) que los del sector público (55%), así como que existe un mayor acceso a la información sobre la PRL en la empresa privada (59,6%) que en la administración pública (52,2%).

En resumen las encuestas respondidas evidencian que el conocimiento sobre los aspectos organizativos de las empresas en materia de PRL aumenta con la edad y que se han logrado bastantes avances en la aplicación de la legislación y de los criterios preventivos, pero que aún queda mucha tarea que realizar para lograr los objetivos propuestos.



Alguna vez, se veían escenas como esta en Nueva York. En los años treinta no había la misma conciencia sobre los riesgos laborales que hoy. Foto: General Photographic Agency

El COBCM en la 2^a Edicion del Día de las Profesiones

Tras el éxito de la pasada edición del Día de las Profesiones, en junio de 2017, la Unión Interprofesional de la Comunidad de Madrid, organiza para el próximo 17 de abril, la segunda edición.

El principal objetivo de este evento es ofrecer a la ciu-



dadanía la oportunidad de informarse, de una manera fácil y cercana, lo que las distintas profesiones y sus profesionales le pueden ofrecer; también, dar a conocer a los jóvenes del distrito las características y campos de actuación de las distintas profesiones, de cara a su elección e información sobre su futuro profesional, mejorar la presencia de los profesionales en la sociedad e incrementar la participación de los Colegios Profesionales en la sociedad con los temas que preocupan a los ciudadanos

El Colegio Oficial de Biólogos de la CM estará nuevamente presente, en este segunda edición, a través de un stand informativo y con la realización de distintas actividades, de cara al ciudadano en general y de profesionales interesados en los diferentes temas que ocupan a los Biólogos. La cita es en el Colegio de Arquitectos de Madrid, calle de Hortaleza 63, Madrid. Personal del COBCM informará sobre los servicios y actividades de nuestro Colegio de cara a los profesionales y a la sociedad en general.



Señalización entre las células madre de la piel y el endotelio linfático

El autor de este trabajo, parte de la hipótesis de que las células endoteliales linfáticas y las células madres tumorales de los carcinomas espino celulares interactúan directamente, induciendo cambios en ambos tipos celulares, que puedan favorecer la progresión tumoral.

La piel desempeña un papel principal en proteger al organismo contra las agresiones externas. El mantenimiento de la homeostasis de la piel es llevado a cabo por las células madre (*Stem Cell*, SC) cuyas propiedades quedan reguladas por el ambiente en el que se desarrollan. Es fundamental comprender los mecanismos involucrados en el mantenimiento de las SC, pues su desregulación puede conllevar enfermedades y, entre ellas, el cáncer.

A nivel estructural, la piel consta de tres capas bien diferenciadas: epidermis, dermis e hipodermis (*Figura 1A*). La epidermis se regenera continuamente a lo largo de la vida. Sin embargo, la regeneración del pelo sucede en fases gobernadas por las SC del folículo piloso, quienes también contribuyen a la homeostasis de la piel cuando se produzca una herida. Por otro lado, mutaciones en estas SC pueden derivar en el carcinoma espinocelular (*Squamous cell carcinoma*, SCC), uno de los dos cánceres de piel más frecuentes.

Las células madre tumorales (*Cancer Stem Cells*, CSC) han sido propuestas como fuerza motriz de la tumorogénesis, por lo que se busca anular su función como soporte tumoral. Por otro lado, los nichos son microambientes especializados que regulan propiedades de las CSC al proporcionar contactos celulares y factores secretados.

Por Alberto Díaz Jiménez Tercer finalista del Premio COBCM al Mejor Trabajo Fin de Grado 2017

Tutores: Mirna Pérez Moreno (CNIO) y Lilian Puebla Jiménez (UAH)

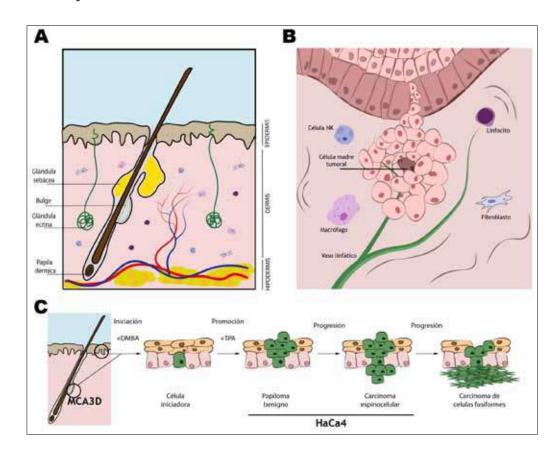


Figura 1 | (A) Estructuración de piel humana.

(B) Componentes del nicho tumoral. (C) Modelo de progresión del carcinoma espinocelular.



Las células que rodean e infiltran los tumores secretan factores que estimulan a las CSC, manteniendo su fenotipo plástico, protegiéndolas del sistema inmune y facilitando su potencial metastásico Entre las células forman el microambiente tumoral se han descrito células del sistema inmune, fibroblastos, adipocitos, así como vasos sanguíneos y linfáticos (Figura 1B).

La contribución del estroma en la proliferación y la progresión de las CSC en el SCC no ha sido del todo estudiada. Un único estudio llevado a cabo por Beck *et al.* (2011) ha demostrado el papel de los vasos sanguíneos en el mantenimiento de las CSC. Sin embargo, el rol de otros componentes del estroma, como los vasos linfáticos aún se desconoce.

Se ha demostrado que las celulas tumorales interactúan con los vasos linfaticos promoviendo un ambiente pre-metastasico. Estudios realizados por Peinado, Lavotshkin & Lyden (2011) han revelado que ciertos factores solubles (VE-GF-C, VEGF-D) juegan un papel importante en la movilización celular durante la metástasis. Por otra parte, quimioquinas como CCL21 (Issa et al., 2008) o CCL5 (Lee et al., 2014), producidas por las células endoteliales linfáticas, atraen a las células tumorales hacia los vasos linfáticos promoviendo el avance tumoral.

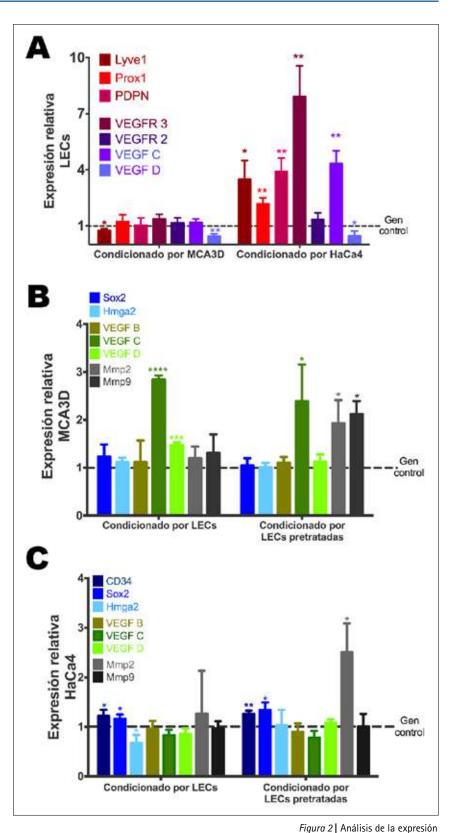
La investigación del papel del sistema linfático en la promoción de la metástasis ha adquirido una mayor relevancia en los últimos 15 años. Sin embargo, poco se conoce sobre cómo la interacción entre las células endoteliales de los vasos linfáticos y las CSC, promueve el desarrollo del SCC.

En base a ello, hipotetizamos que las células endoteliales linfáticas y las CSC del SCC interactúan directamente, induciendo cambios en ambos tipos celulares que puedan favorecer la progresión tumoral.

"Se ha demostrado que las celulas tumorales interactúan con los vasos linfaticos promoviendo un ambiente pre-metastasico"

Para analizar si las células tumorales son capaces de modular la expresión génica de las células endoteliales linfáticas (LECs) y facilitar la tumorogenicidad, utilizamos medios condicionados tumorales y se analizaron los niveles de ARNm en las LECs. (Figura 2A).

Cuando las LECs son cultivadas en medios condicionados por MCA3D (fase inicial de SCC, *Figura 1C*), los genes linfangiogénicos Lyve-1 y VEGF-D presentan una menor expresión com-



parado con el control. Sin embargo, cuando las LECs son condicionadas por HaCa4 (fase de progresión de SCC, *Figura 1C*), se produce una expresión al alza de genes relacionados con la supervivencia, proliferación y migración celular. Así, la expresión de VEGFR-3 se encuentra au-

génica con medios condicionados en (A) LECs, (B) MCA3D y (C) HaCa4.



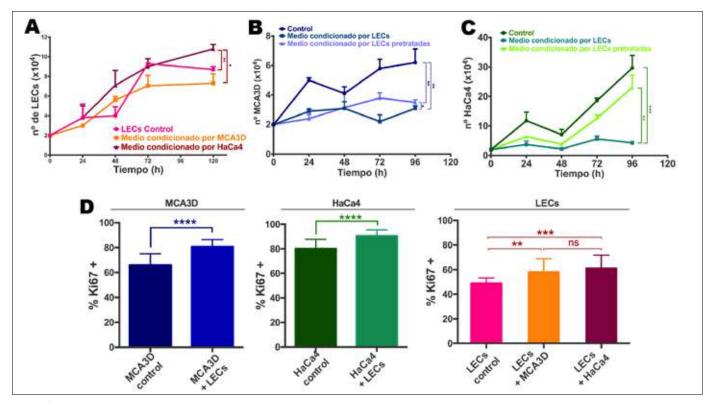
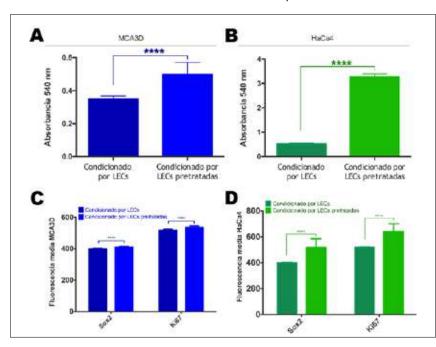


Figura 3 | Estudio de proliferación en medios condicionados en (A) LECs, (B) MCA3D y (C) HaCa4. (D) Estudio de proliferación en co-cultivo.

mentada 7 veces respecto al control, mientras que Lyve-1, PDPN y VEGF-C se encuentran 4 veces más expresados.

"Utilizamos medios condicionados tumorales y se analizaron los niveles de ARNm en las LECs"

Dado que en un nicho la comunicación es bidireccional, se quiso valorar si las LECs son



capaces de modular la respuesta génica en MCA3D y HaCa4. El estudio en MCA3D (*Figura 2B*) refleja que cuando estas células se crecen en medio condicionado por LECs, se produce un incremento significativo de genes angiogénicos y linfangiogénicos (VEGF-B y VEGF-C). Sin embargo, cuando se crecen en medios procedentes de LECs pretratadas anteriormente por MCA3D se incrementan además las metaloproteasas Mmp2 y Mmp9.

Por otra parte, cuando se crecen las HaCa4 (*Figura 2C*) en medios condicionados por LECs y LECs pretratadas aumentan los niveles de CD34 y Sox2.

"Las Haca4, condicionas por LECs pretratadas, recuperaban su tasa normal de crecimiento respecto al control"

Con el fin de entender si el aumento en la expresión de Lyve-1 y VEGFR-3, VEGF-C en las LECs se correlacionaba con un aumento en su proliferación, se evaluó la respuesta de las LECs bajo medios condicionados por MCA3D o HaCa4 (*Figura 3A*). El análisis de la curva de proliferación revela que las LECs presentan una mayor

Figura 4 | Absorbancia de colorante retenido por colonias de (A) MCA3D y (B) HaCa4 en medios condicionados. (C)-(D) ROI de Sox2 y Ki67 para colonias de MCA3D y HaCa4.



proliferación cuando crecen en ambientes condicionados por HaCa4 comparándolas con el control.

"El analisis reveló un incremento significativo de la proliferación de todos los tipos celulares en condiciones de cocultivos"

Sabiendo que la proliferación es sello de identidad de las células tumorales, quisimos saber si las LECs estimulan esta característica.

El estudio en MCA3D (*Figura 3B*) refleja que la proliferación celular disminuye 1.87 veces respecto al control, en ambos tipos de condiciones. La disminución de la proliferación celular se ve también reflejada en la línea HaCa4 (*Figura 3C*), donde las células crecidas en ambientes condicionados por LECs presentan un crecimiento 7 veces menor que el control. Sin embargo, sorprendentemente, las Haca4, condicionas por LECs pretratadas, recuperaban su tasa normal de crecimiento respecto al control.

"Quisimos estudiar como se veía afectada la capacidad de formacion de colonias, una de las caracteristicas mas importantes de las CSC"

Dado que las células no viven aisladas, sino que establecen interacciones dentro del nicho tumoral, quisimos estudiar in vitro cómo se comportan estas líneas cuando las LECs crecen directamente junto con MCA3D o HaCa4.

De forma sorprendente, el analisis reveló un incremento significativo de la proliferación de todos los tipos celulares en condiciones de cocultivos. *(Figura 3D)*. Las MCA3D y HaCa4 presentan una mayor proliferación, respecto al control, cuando crecen junto a las LECs. Asimismo, las LECs incrementan su proliferación en los co-cultivo, pero sin diferencias entre LECs/MCA3D y LECs/HaCa4.

Los medios procedentes de LECs pretratadas promueven la sostenibilidad de las colonias en la línea HaCa4

En vista del aumento en los niveles de expresión de los marcadores CD34 y Sox2 en los diferentes medios condicionados por LECs, y de la capacidad proliferativa de las líneas MCA3D y HaCa4 cuando son estimuladas por LECs, quisimos estudiar como se veia afectada la capacidad de formacion de colonias, una de las caracteristicas mas importantes de las CSC.

En el estudio de las colonias las diferencias

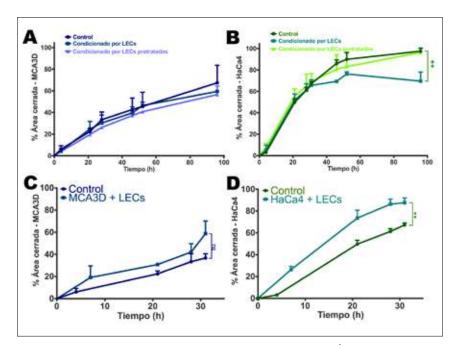


Figura 5 | Porcentaje de área cerrada por (A) MCA3D y (B) HaCa4 en medios condicionados y en co-cultivo (C)MACA3D-LECs y (D) HaCa4-LECs.

más notables se dan en su tamaño. Al analizar las absorbancias de colorante retenido encontramos bajos niveles de absorbancia para las colonias de HaCa4 condicionadas por LECs (Fiqura 4A-B).

Por último, se quiso comprobar si las diferencias en el número y forma de las colonias, se deben a una variación en los niveles de la proteína Sox2 (marcador de CSC) o a variaciones en la proliferación celular a través de Ki67. (Figura 4C-D). El análisis mediante inmunofluorescencia en colonias de MCA3D muestra una disminución de la proteína Sox2 y de la proliferación celular cuando las MCA3D crecen en medios condicionados de LECs. Por otro lado, en las HaCa4 se observó una disminución significativa de Sox2 y de la proliferación celular en las colonias condicionadas por LECs.

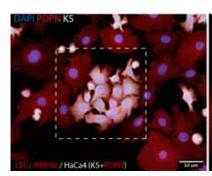
"En la linea MCA3D no se observaron diferencias significativas en la migracion celular"

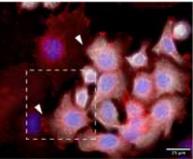
El análisis de la morfología de las colonias condicionadas por LECs, mostraba que las células distribuidas en el margen presentaban protrusiones de membrana y en ocasiones se localizaban fuera de la colonia, sugiriendo una cierta tendencia migratoria. Asimismo, en los ensayos de co-cultivos se observó que los queratinocitos se encontraban en las vecindades de las LECs ($<30~\mu m$). Por lo tanto, se quiso estudiar si los medios condicionados procedentes de LECs son capaces de estimular la capa-

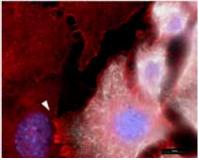


PREMIO COBCM

Figura 6 | Imagen de co-cultivo LECs (rojo) y HaCa4 (blanco) que muestra zonas de contactos heterocelulares (puntas blancas).







cidad migratoria (Figura 5A-B).

En la línea MCA3D no se observaron diferencias significativas en la migración celular. Sin embargo, nuestros resultados demuestran que la movilidad de HaCa4 se encuentra mucho más estimulada en medios condicionados por LECs pretratadas que en las células condicionadas directamente por LECs.

"Es llamativa la baja tasa de proliferación de las MCA3D y HaCa4, que se produce con los medios condicionados por LECs no pretratadas"

Las células linfáticas pueden secretar quimioquinas que atraen a las células tumorales hacia los vasos linfáticos. Por ello, hipotetizamos que las CSC y las LECs son capaces de atraerse mutuamente.

El análisis reveló que cuando las HaCa4 son enfrentadas a las LECs, el cierre de la herida se realiza 1.3 veces más rápido, comparado con la migración de HaCa4 estimuladas por sí mismas. Este resultado resalta la capacidad atracción entre LECs y HaCa4 cuando se encuentran en el mismo nicho (Figura 5C-D).

Discusión

La contribución del nicho tumoral en el mantenimiento de las CSC y su influencia en el cáncer es un aspecto cada vez más reconocido. En consecuencia, existe un interés creciente en dilucidar el comportamiento entre las CSC y su microambiente. La complejidad en las comunicaciones celulares y la posibilidad de su modulación, ofrece nuevas oportunidades para el tratamiento del cáncer. En el carcinoma espinocelular, no existen suficientes estudios sobre la influencia del nicho en las propiedades de las CSC, con excepción de la contribución de las vasos sanguíneos.

Nuestros resultados sugieren que células de progresión maligna del SCC inducen la expresión

de genes linfangiogénicos en las LECs y, en consecuencia, promueven un incremento de la proliferación celular. Estos resultados apoyan la hipótesis de que las CSC causan la formación de vasos linfáticos en el nicho tumoral.

De forma recíproca, las LECs también interactúan con las MCA3D y HaCa4 induciendo cambios en el perfil génico. Las LECs inducen un aumento de expresión de los genes CD34 y Sox2 en HaCa4 incrementando su capacidad stemness. En el caso de MCA3D, se induce la expresión de genes angiogénicos y linfangiogénicos modulando el nicho tumoral.

Por otra parte, es llamativa la baja tasa de proliferación de las MCA3D y HaCa4, que se produce con los medios condicionados por LECs no pretratadas. Este último punto compromete la capacidad clonogénica de las MCA3D y HaCa4. Además, el análisis de ARNm indica un aumento en la expresión de Sox2 que no se traduce en un aumento de proteína. Estos dos últimos resultados podrían deberse a una mayor inestabilidad del ARNm, una mayor degradación de proteína Sox2 o una represión a nivel de traducción de Sox2 debido a algún factor secretado por las LECs. La pérdida de características tumorales relacionadas con la disminución de Sox2 también fue observada por Boumahdi et al., (2014), afectando a la supervivencia, proliferación, adhesión e invasión tumoral.

Finalmente, observamos que las colonias en medios de LECs presentaban una tendencia a la migración. Más aun, en los co-cultivos, los queratinocitos se situaban en las vecindades de las LECs (*Figura 6*). Se observó que las HaCa4 y las LECs se veían atraídas a través de un tipo de migración que podría estar regulada por quimiotaxis. Además, sorprendentemente, se encontraron proyecciones de membrana en las células HaCa4 más próximas a las LECs, lo que parece revelar algún tipo de comunicación heterocelular directa.

Por todo ello, las LECs y las CSC interactúan induciendo modificaciones en el nicho tumoral que promueve características de CSC. •



Del sistema ABO a los **microsatélites**: la evolución de la Genética Forense

La Genética Forense ha evolucionado desde principios del siglo XX hasta la actualidad, pasando por los estudios morfológicos, los marcadores sanguíneos y así hasta llegar al estudio del ADN que sigue en plena evolución.

La prueba de ADN es un estudio rutinario en la práctica forense, ampliamente desarrollado en el ámbito de la criminalística por su versatilidad y por su alta rentabilidad en la identificación genética de los individuos. El objetivo de la Genética Forense es colaborar en la resolución de problemas judiciales, tanto en el ámbito penal como en el civil, donde las pruebas genéticas sean un requerimiento para la administración Judicial. Las actuaciones periciales en las que el análisis forense presenta una aplicación directa son:

- La identificación genética de indicios de interés criminal
- 2. La determinación biológica del parentesco
- La identificación genética de restos cadavéricos y de individuos en grandes catástrofes

Evolución histórica

Las técnicas utilizadas en Genética Forense han ido evolucionando desde principios del siglo XX hasta la actualidad. A principios del siglo XX, los análisis llevados a cabo en el marco de las investigaciones criminales, se basaban en el estudio comparativo de la morfología de los pelos y en el estudio de marcadores genéticos convencionales tales como los antígenos del sistema ABO de los

hematíes que fue descubierto por Karl Landsteiner en 1900 y cuya transmisión hereditaria fue demostrada por Von Durgen y Hirszfeld en 1910 (**Figura 1**).

A partir de mediados del siglo XX, se introdujo el estudio de las proteínas séricas, enzimas eritrocitarias y los antígenos leucocitarios humanos (HLA) del Sistema Mayor de Histocompatibilidad (Dausset, 1981), complementando a los análisis hemogenéticos. Sin embargo, estas téc-

nicas presentaban la limitación de que únicamente era posible la inclusión o exclusión de los individuos como posibles sospechosos. Estos estudios, junto con los análisis antropométricos, fueron el centro de estudio en la identificación forense hasta que en el año 1985, Alec Jeffreys descubrió que determinadas regiones del ADN contenían secuencias que se repetían sucesivamente y que denominó VNTRs (del inglés Variable Number of Tandem Repeats). Entonces, el estudio genético consistía en extraer el ADN y someterlo a la acción de una enzima de restricción que generaba fragmentos de distintas longitudes, lo que se conoce como fragmentos de restricción de longitud polimórfica o RFLPs (de inglés Restriction Fragment Lenght Polymorphism) (Figura 2). Las diferentes longitudes se deben a que estas regiones genómicas presentan un alto grado de variabilidad entre individuos, de tal manera que cada individuo presenta un número de repeticiones diferente de estas secuencias, generando distintos tamaños en la técnica de RFLP, distinguiéndose así un perfil diferente en cada individuo.

El estudio de estos fragmentos se realizaba mediante la técnica Southern Blot (Southern, 1975) que consistía en la separación de dichos fragmentos mediante electroforesis en gel de agarosa y su posterior transferencia a una mem-

> membrana se incubaba con sondas multilocus fluorescentes (*MLPs*, del inglés *Multi Locus Probes*) con ca-

brana de nailon o nitrocelulosa. La



Por Alejandra Tamayo Durán Graduada en Biotecnología,

Máster en Ciencias Policiales con especialidad en Genética Forense, Especialización en Reproducción Asistida y Genética y Especialización en Genética Clínica. alejandratamayoduran@ gmail.com

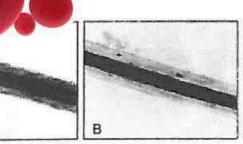




Figura 1. Primeras técnicas de identificación forense: hemogenética forense y estudio morfológico de pelos. A. pelo de ganado, B: pelo de perro, C: pelo humano. (*Anadón M.J., Robledo M.M., TEBAR 2010*).



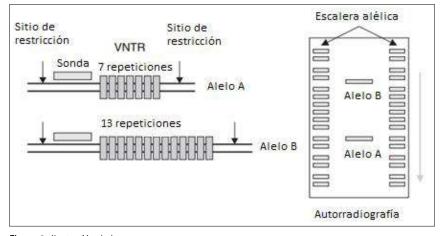


Figura 2. Ilustración de la técnica de RFLPs. Se representa el ADN de un individuo con dos alelos con 7 y 13 repeticiones, respectivamente. Se somete a la acción de una enzima de restricción y el ADN digerido se separa mediante gel de agarosa. (Butler J.M. Fundamentals of Forensic DNA Typing. Elsevier Academic Press, 2010).

Figura 3. lustración del análisis de dos muestras de ADN usando la tecnología RFLPs con sondas multilocus y monolocus, respectivamente. El perfil multilocus produce un patrón de bandas complejo, similar a un código de barras, mientras que el perfil monolocus produce bandas en función de si el sujeto es homocigoto o heterocigoto para ese locus analizado. (Butler J.M. Fundamentals of Forensic DNA Typing. Elsevier Academic Press, 2010).

pacidad de unirse a varios loci minisatélites y posteriormente se revelaba mediante autorradiografía. Por medio de esta técnica, se obtenía un patrón de bandas características de cada individuo que se denominó huella genética o DNA fingerprint (Jeffreys et al. 1985). Esta técnica fue utilizada por primera vez en el campo forense para resolver un caso de inmigración y posteriormente, bajo petición del Ministerio del Interior Británico, para identificar a un violador y asesino del condado de Leicestershire, Reino Unido en 1983 y 1986. (Wambaugh, 1989).

Posteriormente, las sondas multilocus se sustituyeron por sondas monolocus (*SLPs*, del inglés *Single Locus Probes*) que se unían específicamente a un único locus y que tras revelar con autorradiografía, se observaba una o dos bandas dependiendo de si el individuo era homocigoto o heterocigoto para ese locus. El patrón de bandas observado con las sondas monolocus, se denominaba perfil unilocus de ADN o *DNA profiling* (**Figuras 3 y 4**). El desarrollo de estas

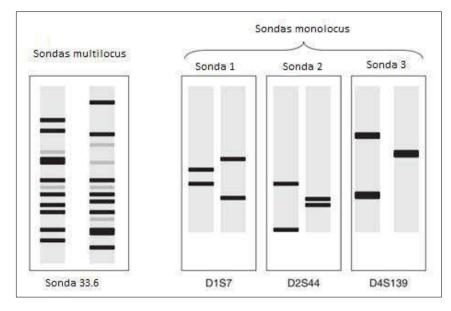
sondas aumentó la sensibilidad y especificidad de la técnica al unirse de manera específica a una único loci y permitió así mejorar la interpretación de los patrones en el análisis de perfiles mezcla. No obstante, la principal limitación de esta técnica radicaba en la necesidad de disponer de moléculas de ADN intactas de alto peso molecular (de más de 12 kilobases) y en grandes cantidades (más de 50 nanogramos), dos puntos críticos en el estudio de indicios biológicos de interés criminal. Además, al necesitarse grandes cantidades de ADN, casi la totalidad de la muestra era consumida para su análisis, lo que dificultaba las posteriores revisiones del caso y las posibles contra-pericias.

Todas estas limitaciones fueron superadas pocos años más tarde en 1987, cuando surge la técnica denominada Reacción en Cadena de la Polimerasa (*PCR* de sus siglas en inglés *Polymerase Chain Reaction*) que revolucionaría la biología molecular y el campo de la Genética Forense al conseguir miles de copias de una secuencia específica de ADN en pocas horas (Mullis, 1987). Un año más tarde, la *PCR* evolucionó dando lugar a la *PCR* multiplex que permite amplificar simultáneamente más de una región del ADN añadiendo varios cebadores diferentes a la mezcla de reacción (Chamberlain, 1988) (**Figura 5**).

A principios de los años noventa, Weber y colaboradores descubren un tipo de VNTRs, los microsatélites o STRs (del inglés Short Tandem Repeats), lo que supuso un enorme avance en la identificación humana en el campo de la Genética Forense, ya que ofrecen una gran cantidad de ventajas en su análisis y, actualmente, son los marcadores más ampliamente utilizados en los estudios de identificación forense.

Inicialmente, el estudio de estos nuevos marcadores consistía en:

- Obtención del ADN mediante extracción orgánica fenol-cloroformo-alcohol isoamílico, método de alto rendimiento pero que supone un proceso lento y laborioso, además de que implica la utilización de componentes tóxicos.
- 2. Precipitación del ADN con alcoholes.
- 3. Amplificación de marcadores mediante PCR.
- 4. Separación por tamaños de los amplicones obtenidos mediante técnicas manuales, en primer lugar con geles de poliacrilamida y posteriormente con geles de agarosa, utilizando, para su visualización, nitrato de plata o isótopos radiactivos en los geles de poliacrilamida y bromuro de etidio en los geles de agarosa.





Actualmente, los procesos para el análisis de ADN se han automatizado con el objetivo de reducir al máximo el tiempo y la complejidad del análisis y el riesgo de contaminación.

Marcadores genéticos

En el genoma humano se calcula que existen en torno a 19000 genes y que representa en torno al 2% del genoma total. El resto, está compuesto por secuencias de ADN repetitivas, funcionalmente inactivas en la mayoría de los casos, que constituyen la principal fuente de variación entre individuos.

El estudio de marcadores de ADN es una herramienta fundamental en la identificación genética de vestigios biológicos en el campo forense. Son muchos los marcadores elegidos a lo largo de los años para el estudio del ADN, desde los VNTRs hasta los SNPs, pasando por los STRs nucleares y mitocondriales.

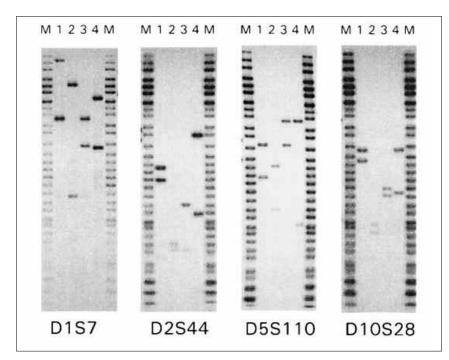
VNTRs

Los primeros polimorfismos de ADN estudiados fueron los *VNTRs*, cuya introducción supuso una revolución en el campo de la genética forense en los años 90. Su estudio mediante la técnica de *RFLPs* permitía obtener información acerca de la identidad genética del individuo gracias a su elevado poder de discriminación. Sin embargo, debido a las limitaciones ya mencionadas, la utilidad de estos marcadores es limitada en la práctica forense ya que los vestigios biológicos contienen bajas cantidades de ADN o éste se encuentra altamente fragmentado debido a la acción de condiciones ambientales adversas.

STRs

Los STRs (del inglés Short Tandem Repeats) son regiones repartidas a lo largo del genoma, tanto en regiones génicas como intergénicas, compuestas por una secuencia de 2 a 7 pares de bases que se repiten en tándem un número variable de veces.

Debido al menor tamaño de los *STRs*, generalmente de menos de 350 pares de bases, en comparación con el tamaño de los *VNTRs*, los marcadores *STRs* presentan ventajas para ser analizados mediante técnicas de *PCR* y separados mediante electroforesis capilar. El análisis mediante amplificación, supone poder estudiar muestras con pequeñas cantidades de ADN e incluso cuando el material genético se encuentre en un alto grado de degradación. Otra de las ventajas del análisis de *STRs* es el estudio



simultáneo de distintos microsatélites en una misma reacción de *PCR*. Asimismo, este método aporta un mayor poder de discriminación, requiere procedimientos menos laboriosos, menos tiempo y destreza y son procesos fácilmente automatizables lo que aporta una velocidad de análisis mayor, indispensable ante la demanda de procesar un gran número de muestras.

Adicionalmente, la segregación familiar de las repeticiones de los marcadores *STR* es especialmente importante en la investigación biológica del parentesco o la identificación de cadáveres por medio de familiares cercanos. De esta manera, un individuo con un genotipo 14-16 para un marcador concreto, ha heredado un alelo con 14 repeticiones de un progenitor y otro alelo de 16 repeticiones del otro progenitor. Por tanto, con el análisis simultaneo de un número significativo de *STRs* (15-20), se alcanzan índices de discriminación cuyas frecuencias hacen que sea teóricamente improbable que haya otro individuo con el mismo perfil genético.

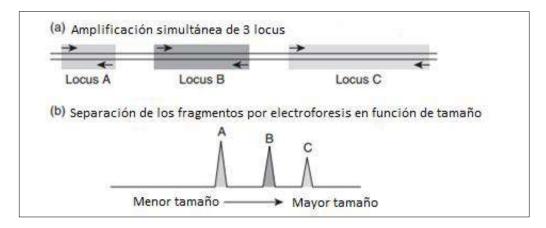
Los microsatélites estudiados habitualmente son marcadores localizados en los cromosomas autosómicos, aunque también cuentan con gran importancia los *STRs* localizados en el cromosoma Y para el estudio de linajes por vía paterna. Pero no sólo los *STRs* nucleares son importantes en el análisis forense, sino que también son extremadamente útiles los análisis realizados sobre las regiones hipervariables HV1 y HV2 del ADN mitocondrial para el estudio de linajes por vía materna y el análisis de muestras forenses con poca cantidad de ADN o degradadas.

Figura 4. Autorradiografía del estudio de cuatro marcadores (D157, D2544, D55110 Y D10528), en cuatro individuos no relacionados, mediante la técnica de RFLP usando la enzima de restricción Hae III, hibridando con sondas monolocus. M: marcador de pesos moleculares. (Jay A. Siegel. Deoxyribonucleic Acid/ Restriction Fragment Length Polymorphism. Encyclopedia of Forensic Sciences, 3: 1-3. 2000)



Figura 5. Esquema de una reacción de PCR multiplex que utiliza varios cebadores en la misma reacción. Los cebadores se diseñan de manera que los amplicones obtenidos tengan rangos de tamaño diferentes para poder ser separados mediante electroforesis capilar. (Butler J.M. Fundamentals of Forensic DNA Typing.

Elsevier Academic Press, 2010).

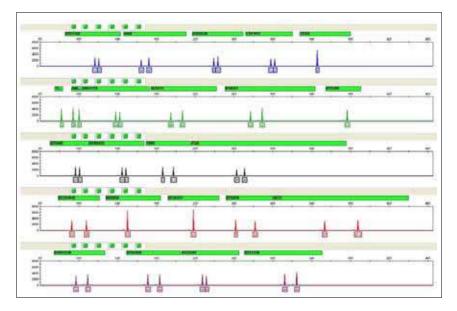


De manera que, gracias a sus características y las posibilidades de análisis que ofrecen, los *STR* se han convertido en uno de los marcadores de elección en la identificación humana, en el mapeo del genoma y en los análisis de ligamiento genético.

SNPs

Actualmente, de manera complementaria al estudio de los polimorfismos de longitud, se está introduciendo el análisis de los *SNPs* (del inglés *Single Nucleotide Polymorphisms*), que se caracterizan por el cambio en uno o más nucleótidos en una secuencia de ADN. Las características de los *SNPs* les convierte en candidatos útiles para el campo de la identificación genética, sin embargo su principal limitación radica en su naturaleza bialélica. No obstante, con la utilización de un mayor número de marcadores *SNPs*, se prevé igualar el poder de discriminación alcanzado por los *STRs* y así poder ser utilizados de rutina en el análisis forense de ADN.

Figura 6. Perfil genético obtenido utilizando uno de los sistemas comerciales de amplificación disponibles en el mercado y analizado con secuenciador automático. (Manual para el usuario de GlobalFiler PCR Amplificaction Kit, Life Tecnologies, 2014)



Ventajas

- Menor tasa de mutación con respecto a los STRs
- Menor tamaño de los amplicones (menos de 100 pb), especialmente útil para el estudio de muestras de ADN degradado
- Susceptibles de análisis por las mismas técnicas que los STRs, además de otras técnicas de gran escala como los microarrays, que permiten el estudio de millones de SNPs simultáneamente

Inconvenientes

- Menor grado de polimorfismo
- Difícil interpretación en perfiles de muestras compuestas por una mezcla de fluidos de dos o más individuos

La prueba de ADN en la actualidad

Gracias a los avances en Biotecnología, los métodos y procedimientos de análisis en el genotipado de los microsatélites han supuesto un gran avance para la comunidad científica. Hoy en día, la práctica habitual en los laboratorios de Genética Forense es el análisis de ADN mediante *STRs* utilizando sistemas automatizados.

Las técnicas habitualmente utilizadas para el análisis de estos polimorfismos son:

- **1.** Pruebas de orientación y certeza para discriminar el tipo de resto biológico.
- 2. Extracción del ADN en fase sólida mediante equipos automatizados que permiten que el ADN se una a un sustrato sólido con el fin de separarlo de proteínas y otros componentes celulares. Principalmente se utilizan kits basados en partículas de sílica o en partículas magnéticas.
- **3.** Purificación y concentración del ADN utilizando sistemas comerciales de filtración.

GENÉTICA

4. Amplificación por PCR multiplex y separación de fragmentos a través de electroforesis capilar utilizando sistemas automatizados. Esta tecnología se basa en la utilización de cebadores marcados con diferentes fluorocromos para la amplificación de los STRs seleccionados y posteriormente separar los amplicones generados mediante electroforesis con secuenciadores automáticos. Estos sistemas están dotados de una luz láser, situada cerca del extremo del capilar, que incide a través de una ventana abierta al mismo y excita los fluorocromos haciendo que éstos emitan fluorescencia. Los fragmentos de ADN de menor tamaño avanzan más rápidamente y se detectan con anterioridad a los fragmentos de mayor tamaño. El resultado que se obtiene es un perfil genético de los distintos marcadores STRs analizados en función de si el individuo es heterocigoto u homocigoto para cada marcador estudiado (Figura 6).

Ventajas

- Alta sensibilidad
- Análisis rápido y automatizado
- Aplicable a muestras de ADN degrado
- Análisis de múltiples loci simultáneamente
- Kits comerciales de uso universal

Inconvenientes

- Kits y equipos costosos
- Riesgo de contaminación con ADN exógeno
- En algunas ocasiones, difícil interpretación de los perfiles

La Genética Forense ha ido evolucionando a lo largo de la historia, con respecto a las técnicas utilizadas y a los marcadores genéticos estudiados. Los objetivos que persigue esta disciplina en la actualidad son: a) poder analizar una gran cantidad de muestras simultáneamente, automatizando los procesos para reducir el riesgo de contaminación y disminuir el tiempo de análisis; b) incluir nuevos avances tecnológicos como puede ser el estudio forense mediante SNPs y c) optimizar las tecnologías para poder analizar de forma coste-eficiente muestras con baja cantidad de ADN o muestras en las que éste se encuentre degradado y/o fragmentado debido a la acción de condiciones ambientales adversas, hecho muy habitual en el estudio de vestigios biológicos procedentes de casos forenses. •

Agradecimientos

Escribir este artículo me ha hecho recordar la ilusión y pasión con la que siempre he buscado especializarme en Genética Forense, y que lamentablemente había dejado de lado debido a las dificultades laborales que presenta este campo. Sin embargo, nunca perderé la esperanza de poder dedicarme a ello.

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a Mónica Martínez García que de manera altruista y desinteresada, aceptó ayudarme en la redacción y elaboración de esta revisión, inspirada por la pasión que ambas compartimos, la genética.

En segundo lugar, agradezco al Capitán Juan Luis Martín Martín, mi tutor en mi Trabajo de Fin de Grado, el cual me ayudó a sumergirme de manera teórica y práctica en el campo de la genética forense. Gracias a él y a mi estancia de prácticas en el Laboratorio de Biología del Servicio de Criminalística de la Guardia Civil, afiancé mi deseo de dedicarme a este campo.

Por último, y no por ello menos importante, me gustaría dar las gracias de corazón a mi familia y amigos, especialmente a mis padres, José Luis y Manuela, por apoyarme en todo momento y creer en mí, incluso cuando yo no creía en mi misma.

Bibliografía

- 1. Landsteiner K. (1900). Zur kenntnis der antifermetativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. Zentralbe Bakteriol 27, 357-362.
- 2. Von Dungern E. y Hirschfeld L. (1910). Ueber Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes. Z Immunforsch 6, 284-292.
- 3. Dausset J. (1981). Complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme. Flammarion.
- 4. Jeffreys A.J., Wilson V. y Thein S.L. (1985). Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. Nature, 314, 67-73.
- 5. Southern E.M. (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. Journal of Molecular Biology, 98 (3),503-517.
- 6. Jeffreys A.J., Wilson V. y Thein S.L. (1885). Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. Nature, 316, 76-79.
- 7. Jeffreys A.J., Turner M. y Debenham P. (1991). The efficiency of multilocus DNA figerprint probes for individualization and establishment of family relationships, determined from extensive casework. The American Journal of Human Genetics, 48(5), 824-840.
- **8.** Jeffreys A.J. et al. (1985). Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. Nature, 317, 818-819.
- 9. Wambaugh J. "The blooding". New York: Bantam Books; http://www. forensic.gov.uk
- 10. Mullis K.B. y F. F. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerasecatalyzed chain reaction. Methods in Enzymology, 155,335-350.
- 11. Chamberlain, J. S., Gibbs, R. A., Ranier, J. E., Nguyen, P. N., y Caskey,
- 12. C. T. (1988). Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. Nucleic Acids Research, 16(23), 11141-56.
- 13. James L. Weber y Paula E. May (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. The American Journal of Human Genetics, 44, 388-396.



PARA VER



Riesgo biológico en el cine

El temor al contagio de enfermedades incurables, siempre causa atención. En la historia del cine se han filmado numerosas películas que recogen este temor con mayor o menor impacto. Este es el resumen de las más visionadas e insólitas.

Por G .Pascual Álvarez Jefe del Servicio de Seguridad Biológica. Centro de Investigación en Sanidad Animal, INIA.

Material y método

En 1931, John Ford rueda *El Doctor Arrows-mith*, basada en el best seller de Sinclair Lewis,

Premio Pulitzcher y Premio Nobel y que fue nominada en 1931 a cuatro Oscar (mejor película, guion adaptado, fotografía y decoración).

"Martin Arrowsmith" (Ronald Colman), ejerce como médico y desarrolla un suero para el tratamiento del carbunco del ganado vacuno.

En Indias Occidentales intenta erradicar la peste con un tratamiento innovador. Su mujer fallece como consecuencia de la contaminación del filtro de

un cigarrillo con gotículas procedentes de un cultivo del bacilo.

En 1935 se estrena la película La tragedia de Louis Pasteur, dirigida por William Dieterle e interpretada por Paul Muni y Josephine Hutchinson. Se trata de una biografía de Louis Pasteur y su esposa y se ofrece en tres partes relacionadas con los estudios de Pasteur en el campo de la Microbiología: teoría microbiana de la





enfermedad, estudios sobre el carbunco e investigaciones sobre la rabia.

La acción comienza en 1886. Un hombre asesina a un médico al considerarle responsable de la muerte de su mujer por no seguir las recomendaciones de Louis Pasteur respecto al lavado de manos y la desinfección del instrumental previo a la asistencia al parto.

En el año 1950, el director Elia Kazan rueda en Nueva Orleáns **Pánico en la calles**. Recibió el Oscar al mejor argumento. Está basada en las historias *Quarantine* y *Some like'em cold* de Edna y Edward Anhalt.

Es la película de peste por excelencia, donde el doctor "Reed" protege a las personas que han estado en contacto mediante la vacunación y el uso de estreptomicina y busca evitar su extensión localizando su origen y todos los contactos.

El Director Don Siegel, estrena en 1956 una película épica en el género, *La invasión de los ladrones de cuerpos*. Esta historia original de Jack Finney, ha sido llevada al cine cuatro ocasiones.

La última, *The Invasion* de 2007, del director Oliver Hirschbiegel **con Daniel Craig y Nicole Kidman** en el reparto.

Tras el impacto de un transbordador espacial contra la Tierra, una epidemia provoca que los humanos infectados por contacto sufran una mutación en su ADN, siendo reemplazados por seres físicamente idénticos pero sin emociones.

En 1968, se monta la película por antonomasia de zombis y que sirvió de modelo a otras muchas posteriores: *La Noche de los Muertos Vivientes* de George A. Romero.

En los siguientes años, filma dos películas más de la saga, convirtiéndose en una trilogía: **Zombi: El Amanecer de los Muertos** en 1978, con más componente de acción y en este caso atacando un centro comercial y en 1985 **El día de los muertos**, donde los zombies (400.000 por cada 1 humano) hace que un grupo de científicos y militares se refugien en una antigua instalación subterránea del gobierno.

En 2004, Zack Snyder presenta un remake de la película de 78: *El Amanecer de los Muertos*, de ritmo increíble.

En 1971 la película La amenaza de Andrómeda y su posterior miniserie homónima (2008), es quizás la película que menor can-













tidad de errores científicos comete. El guion procede de una novela de Michael Crichton.

Dirigida por Robert Wise y protagonizada por Arthur Hill, cuenta como la caída de un satélite militar transporta a la tierra un virus de origen extraterrestre que provoca en el huésped coagulación intravascular diseminada. Los protocolos de desinfección están muy conseguidos. Se descubre que "Andrómeda" es vulnerable a cambios en el pH sanquíneo.

En 1975 aparece *Vinieron de dentro de* del Director David Cronenberg. Inspirada en los escritores William Burroughs y J. G. Ballard, situa la acción en el complejo residencial "Starliner".

Un científico, gracias a la manipulación genética, crea una plaga de un parásito intestinal que produce en sus anfitriones un salvaje deseo sexual y asesino.

David Cronemberg y su obsesión por lo carnal, cosecharon un gran éxito con esta película considerada de culto. Ganó premio a mejor director en el festival de Sitges de 1975.

En el año 1995, aparece en cartelera la película de riesgo biológico por excelencia: **Estallido (Outbreak)** del director Wolfgang Petersen.

Con origen en un campamento del Zaire, el **filovirus "**Motaba" se vectoriza gracias a un mono que viaja a EE.UU gracias al contrabando















de animales. Los que han estado en contacto con el simio empiezan a mostrar los primeros síntomas de la enfermedad.

Sin existencia de cura, se acaba con el foco mediante la liberación de una bomba atómica.

Dustin Hoffman y Rene Russo, presentan los trajes de bioseguridad nivel 4 y se muestran instalaciones de nivel 4 de Contención Biológica reales (Fort Dietrick).

También en 1995 aparece *12 monos*, del director Terry Gilliam y con un reparto de lujo: Bruce Willis, Madeleine Stowe, Brad Pitt y Christopher Plummer.

Año 2035. Un virus creado por la organización terrorista "El ejército de los 12 monos" y que ha matado a millones de personas, obliga a los supervivientes a dejar la superficie terrestre y vivir bajo tierra. El prisionero "James Cole" (Bruce Willis), se ofrece voluntario para viajar al pasado y conseguir una muestra del virus para poder elaborar un antídoto.

Inspirada por la película "La Jetée" de 1962 fue nominada al Oscar y el Globo de Oro concedidos a Brad Pitt por su papel de secundario.

Año 2002. Nos impactamos con la película *Resident Evil* y luego con las 4 posteriores (2004; 2007; 2010 y 2012). La película muestra con esplendor a Milla Jovovich.

El Virus T, que convierte a las personas en zombis, se ha desatado en un centro de investigación llamado la Colmena. La Corporación Umbrella envía a un equipo y solo se encuentra a "Alice" en estado de amnesia temporal. Juntos se adentran en la Colmena para saber qué ha pasado debiendo enfrentarse a los cadáveres reanimados y las bioarmas que allí se desarrollaban.

También en el año 2002 se estrena en Reino Unido la película de "Danny Boyle" **28 dias después.**

Unos científicos investigan un nuevo virus con simios hasta que un grupo pro-derechos animales los libera.

"Jim", despierta de un coma 28 días después del incidente. Todo Londres está desierto. Durante el metraje es perseguido por una colmena de zombis que corren más que "Usain Bolt"

La infección, síntomas y transformación de los actores tan solo tarda 20 segundos. Existe una secuela '28 semanas después', dirigida por Juan Carlos Fresnadillo y se prepara otra: 28 meses después.

Infection (Kansen) del director Masayuki Ochiai también se proyecta en el 2004. Forma parte de la nueva camada de films de terror llamada "J Horror Theater"

En un viejo hospital que atraviesa una crisis de recursos, se amontonan algunos pacientes y como el personal está sobre-exigido, comete errores.

Ingresa un paciente que sufre una rara afección que provoca la disolución de los órganos. El virus resultará ser altamente contagioso y todos allí adentro tendrán que pelear por sus vidas escapando de esta horrorosa epidemia.

Llega el año 2007 y del director Francis Lawrence aparece la película **Soy Leyenda**, donde el actor Will Smith creyendo que es el último superviviente de la humanidad, tiene que enfrentarse a infectados vampíricos con un virus mutante.

Se trata de la cuarta adaptación cinematográfica de la novela homónima de Richard Matheson, en la que se narran las vivencias de "Robert Neville".

La primera versión, fue la protagonizada por Vincent Price, *El último hombre vivo sobre La Tierra*.

En el mismo 2007, los directores Jaume Balagueró y Paco Plaza, filman *REC*. Está rodada en un portal de las Ramblas de Barcelona, como un falso documental gracias al uso de cámaras digitales y teléfonos móviles; todo en tiempo real.

Ya se pueden encontrar la segunda, tercera y cuarta parte.















2008. Se estrena *El incidente,* dirigida por M. Night Shyamalan.

En unos minutos, en las principales ciudades de Estados Unidos se producen unas extrañas muertes sin explicación. Una extraña sustancia procedente de las plantas se transmite por el aire, afectando a los neurotransmisores, bajando los niveles de serotonina y produciendo alteraciones en el habla, dificultades para moverse y suicidios en masa. "Elliot Moore" (Wahlberg), profesor de ciencias de Filadelfia, huye a Pensilvania con su mujer (Deschanel), su amigo "Julián" (Leguizamo) y la hija de éste, pero ningún lugar es seguro.

The Thaw (Arctic Outbreak) en el 2009 del director canadiense Mark A. Lewis, supone una película muy poco reconocida que trata el tema del ecoterrorismo.

En una estación de investigación ártica, cuatro estudiantes de Ecología descubren un parásito prehistórico que es liberado de los restos de un mamut lanudo que lleva oculto en el hielo desde la prehistoria. Los estudiantes infectados, se ven obligados a pasar cuarentena tratando de evitar el riesgo de propagación al resto del mundo.

En el 2011 se estrena *Contagion* donde actúan Matt Damon, Kate Winslet y Laurence Fishburne, con dirección de Steven Soderbergh.

Una norteamericana (paciente cero), de viaje a un casino de Hong Kong, contrae un virus mortal híbrido de influenza de porcina con murciélago. En pocos días, la enfermedad empieza a diezmar a la población. El contagio se produce por mero contacto entre los seres humanos.

Para terminar, en 2013 se presenta en la gran pantalla *Guerra mundial Z*. Posiblemente la más espectacular por los recursos y escenas y donde se visualiza perfectamente lo que es un laboratorio de nivel 3 de contención biológica.

Dirigida por Marc Forster y protagonizada por Brad Pitt, está basada en la novela homónima de Max Brooks. Cuando el mundo comienza a ser invadido por una legión de muertos vivientes, "Gerry Lane" (Brad Pitt), un experto investigador de las Naciones Unidas, intentará evitar el fin de la humanidad, llevándolo a recorrer el mundo entero buscando la solución hasta alcanzar un laboratorio NCB3 de la OMS en Irlanda. Allí descubre que la forma de pasar inadvertido delante de los zombis es inocularte otro virus. De esa manera los zombis no te detectan.

Conclusiones

Resulta imposible mostrar en este estudio la totalidad de las películas que sobre riesgo biológico se han concebido y alumbrado en la historia del cine. Tal vez no sean todas las que aparecen las más representativas, pero el ánimo seguido se ha inspirado en la necesidad de mostrar que el riesgo biológico es un tema apasionante y recurrente. No solo por las noticias que nos llegan en la vida real donde virus, bacterias y parásitos, de vez en cuando se revelan y nos "acojonan", sino porque además es motivo de morbo y miedo entremezclados.

Da igual el país donde nazca una "peli" de riesgo biológico, da igual el año o el siglo, el temor al riesgo biológico es global e incontemporáneo: Engancha. •

Bibliografia

- http://www.filmaffinity.com/es/
- http://www.walskium.es/magazine/cine/las-10-mejores-peliculas-deinfecciones/
- http://lacienciaysusdemonios.com/2010/10/15/cinco-peliculas-sobre-epidemias-destacables-por-algun-motivo/
- http://www.neoteo.com/las-mejores-peliculas-de-pandemias
- http://www.cinemania.es/noticias/el-cine-en-tiempos-del-ebola-10-peliculas-muy-infecciosas/
- http://campus.usal.es/~micromed/
- http://www.estrenosdecine.eu
- http://www.hoycinema.abc.es/filmoteca/

La puesta en valor de las salinas artesanales, un aliado para la **biodiversidad**

Hay vida, y mucha en las salinas, sobre todo de halófilos como los holobiontes. Durante las tareas de explotación artesanal se generan capas horizontales de micro organismos de indudable valor científico pero también, práctico, que aseguran la impermeabilidad. Un mundo apasionante para conocer.





Por Katia Hueso Kortekaas, PhD IPAISAL – Instituto del Patrimonio y los Paisajes de la Sal salinasdeinterior@qmail.com

Cuando pensamos en la obtención de sal como recurso, acuden a nuestra mente imágenes de montañas de sal en la costa o profundas y oscuras minas de sal en el interior. Lo vemos como una actividad extractiva, que por definición ha de tener un impacto negativo sobre el paisaje y la biodiversidad. Al fin y al cabo, se nos ha enseñado que la sal mata todo ser viviente y ya en la Biblia nos hacen ver que vuelve yermos los paisajes. Sin embargo, nada más lejos de la realidad. Las salinas de evaporación solar, tanto las de costa como las de interior, que también las hay, son lugares llenos de vida. En ellas se dan condiciones extremas de salinidad, pero también de insolación, temperatura, radiación ultravioleta e incluso ausencia de oxígeno. Un ambiente ideal para los organismos extremófilos, que presentan adaptaciones fisiológicas específicas para soportar estas condiciones y les permite, por tanto, tener la exclusividad por el uso del espacio. Un tipo concreto son los halófilos, los seres "amantes de la sal". Es decir, aquellos organismos capaces de vivir en ambientes salinos. Algunos no son exclusivos de estos ambientes, pero la toleran; los denominados halo tolerantes, que por lo general se encuentran en zonas de salinidad

media y baja. Y en el extremo de esta cadena tendremos los halobiontes, es decir, los seres vivos que sólo pueden vivir en condiciones de hipersalinidad. Son estos los más sensibles a los cambios en las condiciones ambientales y los primeros en sufrir un descenso en los niveles de sal.

Los ecosistemas hipersalinos no son abundantes en la naturaleza, salvo allí donde aparece un manantial o cubeta de aguas salinas o hay un depósito de sal a cielo abierto. Uno de los lugares en los que se dan estos ecosistemas,



Artemia salina nadando en Saelices de la Sal (Guadalajara).



son precisamente las salinas de evaporación solar. Pese a ser lugares construidos por el ser humano, constituven importantes reservorios de biodiversidad halófila. Estas comunidades se caracterizan por una diversidad específica relativamente baja, pero por una enorme productividad biológica y abundancia de individuos, incrementando así la diversidad genética. Al borde de las salinas se general orlas de isosalinidad, con comunidades de flora y fauna adaptadas a las condiciones específicas de cada una. Estas orlas son muy estrechas en las salinas de interior, produciéndose una brusca transición entre los ambientes salinos y los de aqua dulce. Los organismos halófilos -que dedican un importante esfuerzo fisiológico de adaptación- no suelen proliferar con facilidad en estos últimos, pues se ven sujetos a la competencia de organismos generalistas u oportunistas. Así, se podría decir que las salinas son islas de una biodiversidad rara y frágil, rodeadas de un mar de tierra.

La producción de sal en una salina de evaporación solar, sobre todo si es artesanal, se efectúa haciendo pasar la salmuera de un grupo de balsas a otras de forma secuencial, desde el mar o el manantial de agua salada hasta el momento de la cosecha. Según la concentración que traiga en origen esa aqua, se necesitan más o menos balsas de evaporación. La función de éstas es múltiple: Por un lado, permiten decantar los sólidos en suspensión que hay en la salmuera, así como las sales que precipitan a menor concentración, y que darían un mal sabor a la sal (carbonatos, sulfatos, vesos). Por otro lado, que, gracias a la acción combinada del viento y el sol, se vaya evaporando el agua y aumente la concentración de sal. Y, por último, sirven de reserva de salmuera para ir acumulándola fuera de la temporada de producción. En función del modelo productivo, del clima, de la qeomorfología local y de la salmuera de origen, puede haber varios tipos de balsas, con concentraciones diferentes de sal y, por tanto, con condiciones micro ambientales diferentes. Este es el caso, por ejemplo, de las salinas artesanales, que cuentan con al menos tres o cuatro tipos de balsas, hasta llegar a los cristalizadores, que es donde finalmente se obtiene la sal.

El salinero hace pasar la salmuera de un grupo de balsas a otras a medida que la salmuera se va concentrando y va perdiendo los sedimentos y otras sales que no le interesan. Así, cada grupo de balsas constituye una red trófica en sí misma, cada una con diferentes condiciones ambientales y, por tanto, con una



Bandada de flamencos sobrevolando las salinas de San Lucar de Barrameda.

comunidad específica adaptada a las mismas. Estas balsas están comunicadas entre sí para permitir el paso de la salmuera cuando así lo determina el salinero, pero por lo demás funcionan como ecosistemas independientes.

Estas comunidades son muy valiosas para la producción de sal. Cuando el fondo de las balsas más salobres es de arcilla, se generan los llamados tapetes microbianos. Se trata de entramados complejos de capas horizontales de microorganismos, que forman un tejido muy tupido y se alimentan unos a otros. Amén de su valor científico -son comunidades muy simi-



Matas de juncos (Juncus sp) en las salinas de Añana (Álava).





Salinas de Imón (Guadalajara) a día de hoy abandonadas.

lares a las que se cree que hubo al inicio de la vida en nuestro planeta- tienen un indudable valor aplicado. Tapetes similares se usan, por ejemplo, para la descontaminación de suelos o para el filtrado de aguas residuales. Pero para el salinero tienen un uso práctico más inmediato. Los tapetes aseguran la impermeabilización de las balsas, previniendo pérdidas de salmuera hacia el subsuelo.

Si el rol del bentos es importante, no lo es menos el del plankton y el necton. Los microorganismos acuáticos presentes en las salinas -más diversos en las balsas salobres, y más específicos en las hipersalinas- se ocupan de clarificar la salmuera. Se alimentan de la materia orgánica que flota en ella como resultado de procesos de descomposición de otros seres vivos o de las deyecciones de la fauna que habita las salinas. A su vez, sirven de alimento para otros organismos, como micro invertebrados y, de forma indirecta, para sus predadores. Se dice, por eiemplo, que los flamencos deben su color rosa al alga cloroficea Dunaliella salina, omnipresente en estos ambientes. Esta alga es muy rica en beta-caroteno, que le sirve para protegerse de la intensa radiación ultravioleta que hay en las salinas y que le confiere un característico color rojizo. Este tono se transfiere a, entre otros, el crustáceo Artemia sp., otro habitual de estos sistemas, que es a su vez el alimento predilecto de los flamencos. No hay más que ver el color pálido que tienen estas aves en cualquier zoo, para creer en esta hipótesis. El color rojizo, además, oscurece la salmuera, lo cual acelera el proceso de evaporación. Por otro lado, la salmuera clarificada, pero no exenta de micropartículas, es esencial para la producción de sal de calidad. Un exceso de materia orgánica impediría la adecuada cristalización de la sal, pues el mucílago prevendría la formación de cristales macroscópicos o los haría irregulares y quebradizos. Pero una salmuera aséptica, sin materia en suspensión, impediría la formación de cristales, que necesitan al menos de una partícula para iniciar ese proceso, para fijar las moléculas de cloruro sódico a un sustrato.

Si se abandonara la producción de sal, no solo tendría consecuencias para la actividad salinera como tal, sino para el ecosistema halófilo. Al cesar la actividad, ya no sería necesario introducir la salmuera en el sistema. El flujo de la salmuera ya retenida en las balsas se detendría, el equilibrio entre ellas desaparecería y se uniformizarían las condiciones en el conjunto de la salina. Las especies halófilas, raras y frágiles como ya se ha explicado, serían





Salinero trabajando en Gérande (Francia).

sustituidas por otras generalistas e incluso oportunistas. Como consecuencia, se banalizaría el entramado de redes tróficas secuenciales y se reduciría la biodiversidad allí presente. Este desequilibrio, si no es adecuadamente remediado, puede resultar en un empobrecimiento muy grave de los valores naturales del espacio.

De todo ello se desprende que una salina es un sistema en equilibrio. No sólo desde el punto estrictamente ecológico, sino en el que se da una sinergia entre la biodiversidad halófila y la producción de sal por medios artesanales. En una salina industrial muchos de estos procesos están automatizados y no requiere ni del saber-hacer del salinero ni de su conocimiento profundo de los procesos naturales que se dan en la salina. Por ello, esta acción sinérgica es especialmente relevante en las salinas en las que la sal aún se cosecha a mano.

Por desgracia, la salinicultura artesanal no es rentable en el mercado de la sal y de las cerca de 700 salinas que en su día hubo activas en España, apenas un par de decenas sobreviven en activo, la mayoría de carácter industrial. De las artesanales, muchas lo hacen con una actividad algo empobrecida, vendiendo la salmuera de los manantiales -es decir, no usan las balsas- o con una actividad testimonial que deja gran parte de la superficie productiva en desuso. Hay sin embargo algunas iniciativas de puesta en valor de salinas artesanales que están revitalizando la actividad y, aunque sea de forma indirecta, recuperando los valores naturales de los espacios salineros en cuestión. Tal vez



Montones de sal a la espera de ser recogidos en Saelices de la Sal (Guadalajara).

el caso más emblemático sean las salinas de Guérande, en Francia, hoy en día referente de desarrollo local para las salinas artesanales de evaporación solar. A la zaga le siguen las salinas de Cervia en Italia, Sečovlje en Eslovenia, Aveiro en Portugal... Todas ellas gozan de buena salud productiva, pues la sal que cosechan a mano no entra en el mercado de la sal convencional, sino en el de los productos alimentarios de calidad, por lo que resulta económicamente sostenible. Pero más importante es la capacidad que han demostrado estos proyectos de recuperación, de conciliar los intereses productivos con la protección de los valores naturales del sitio. Prueba de ello es que todos gozan de alguna figura de protección ambiental (Ramsar, Natura 2000, etc.). En España conviene también prestar atención a la labor de puesta en valor de las salinas de interior, únicas a escala continental. El camino está marcado por el Valle Salado de las Salinas de Añana, el caso más avanzado, en el que se conjugan gastronomía, turismo y protección de la biodiversidad halófila que albergan. Otras salinas que merecen mención, en este respecto, son las de Saelices de la Sal, en Guadalajara; Poza de la Sal, en Burgos; Rambla Salada, en Murcia; Iptuci, en Cádiz; Duernas, en Córdoba o Salinas de Oro, en Navarra. Aún gueda mucho camino por recorrer en el conocimiento y la conservación de la biodiversidad halófila en estos enclaves. Pero el hecho de que en ellos se produzca la sal de forma artesanal, ya es un paso importante para su protección. •

Cursos Medio Almoiente

Modalidad Online

Educador e Intérprete Ambiental (50 h)

Gestión y Conservación de Fauna (110 h)

Técnico en Evaluación Ambiental (120 h)

Agricultura Ecológica: Un Motor de Desarrollo Económico Sostenible (50 h)

Aplicación de los SIG a los Estudios de Litoral y Medio Marino (100 h)

Inventario de Flora y Fauna con Técnicas GIS/GPS (100 h)

Gestión de Espacios Naturales Protegidos (110 h)

Restauración Ambiental de Espacios Degradados (100 h)

SIG Aplicados a la Gestión Ambiental (100 h) Gestión de Residuos Urbanos (100 h)

Seguimiento y Vigilancia Ambiental en la EIA (120 h)

Contaminación del Suelo y las Aguas Subterráneas (80 h)

Gestión y Monitorización del Estado de las Masas de Agua Continentales (120 h)

Herramientas Básicas de Gestión Ambiental en la Empresa (220 h)

Guía de Naturaleza: Diseño de Itinerarios Interpretativos (100 h)

Información y Secretaría

Coordinación cursos on line

Teléfono: 914 443 643

630417063

cursosonline@cobcm.net

http://cursos.cobcm.net

Descuento

para colegiados y precolegiados

Organiza:



Colegio Oficial de Biólogos de la Comunidad de Madrid

