



Sección Estudiantil

GENÓMICA DE AGENTES INFECCIOSOS: AVANCES Y PERSPECTIVAS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Esteban R. Arrieta Bolaños

Estudiante de Posgrado, Maestría en Microbiología, UCR.

Resumen

El descubrimiento de los secretos de la biología molecular ha marcado un punto de inflexión en las ciencias biológicas. La genómica es parte fundamental de este auge y se define básicamente como el estudio de la composición, estructura y función del material genético de los organismos vivos. El presente es un artículo de revisión sobre genómica de agentes infecciosos, el cual toca aspectos como la historia y los avances en el tema, para luego entrar en materia sobre ejemplos del conocimiento actual de los genomas de los más importantes agentes de interés en salud pública, así como las aplicaciones de los mismos para el mejoramiento de la salud humana. Al final, se ofrece una perspectiva para el futuro de la genómica y conclusiones sobre su aplicación en el ámbito nacional.

Palabras clave: genómica, agentes infecciosos, ADN.

Recibido: Octubre 2007. Aprobado: Diciembre 2007. Publicado: Marzo 2008.

Abstract

The discovery of molecular biology's secrets has marked a turning point in biological sciences. Genomics constitutes a fundamental part of this progress and it is defined as

the study of the composition, structure and function of genetic material in living organisms. The present review focuses on infectious agents' genomics, going from historical aspects and present day advances, to specific examples of the current knowledge on the genomes of the most important agents to public health and their impact on human health improvement. Finally, a perspective of the future of genomics and concluding remarks on the possibilities of its application in our national health system are given.

Keywords: genomics, infectious agents, DNA.

Introduction

Las ciencias biológicas han visto a lo largo de su trayectoria de estudio de los sistemas vivientes el auge de ciertas técnicas, avances o conceptos que marcan un hito y que caracterizan a una época de la disciplina científica. En un momento dado, gracias a la curiosidad de van Leeuwenhoek y la aplicación científica de Pasteur, nace la microbiología como disciplina, y ésta se ve agitada más tarde con el advenimiento de la era de los antibióticos, a la cual se le debe un considerable mejoramiento de la calidad de vida humana. El descubrimiento de los secretos de la biología molecular ha marcado también un punto de inflexión en las ciencias biológicas.

La genómica es parte fundamental de este auge, y se define básicamente como el estudio de la composición, estructura y función del material genético de los organismos vivos [1]. Este término fue introducido por Roderick en 1986, cuyos objetivos son conocer la totalidad de los genes de un ser vivo y la expresión de sus transcritos en conexión con los procesos metabólicos que realiza y las características estructurales y funcionales del organismo, de importancia en patogénesis [2].

Al pensar en genómica, generalmente se asocia el proyecto del genoma

humano, cuya secuencia más pulida fue publicada en 2004, y de hecho, las aplicaciones biomédicas con las que se le relaciona son quizás el aspecto a primera vista más relevante. Sin embargo, el estudio de los genomas no se limita a esto y además empezó a dar sus frutos primero en muchos otros organismos. Los microorganismos, y en especial los patógenos humanos y vegetales, han sido los primeros en ponerse bajo la lupa de esta "ciencia del momento". Así, la genómica bacteriana inicia con la publicación del primer genoma, el de *Haemophilus influenzae*, en 1995, y hoy en día viejas enfermedades infecciosas como la lepra o la tuberculosis, y enfermedades gastrointestinales comunes pueden ser mejor investigadas gracias a su inclusión en la era genómica [2]. Ejemplo de la relevancia de estos avances lo constituyen las investigaciones de Rappouli y colaboradores, quienes han desarrollado en ratones una nueva vacuna basada en genómica contra *Neisseria meningitidis* [2]. Las aplicaciones de esta disciplina también atañen a la investigación en la llamada farmacogenómica, que involucra la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos en los agentes infecciosos, así como al desarrollo de nuevas

herramientas diagnósticas aplicadas en la clínica y en epidemiología.

Hasta finales de noviembre de 2006, el Centro Nacional para la Información Biotecnológica de EE.UU. (NCBI) tenía registrados 1327 proyectos de genomas de distintos organismos celulares. De éstos, los proyectos de bacterias predominan con 1034, seguidos por los eucariotas con 236 y las arqueas con 57. Además, se dispone hasta el momento de 2504 secuencias de referencia para 1730 genomas virales y 36 secuencias de referencia para viroides [3]. Las estadísticas completas de los proyectos genómicos pueden ser consultadas en la base de datos Entrez Genome

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/static/gpstat.html>). De los 1327 proyectos de organismos celulares vigentes solo 438 (cerca de la tercera parte) están ya completos, lo cual evidencia que el grueso de la información genómica está apenas por llegar.

Específicamente, para los genomas de organismos patógenos para el ser humano se tiene que más de 400 proyectos corresponden a bacterias patógenas, representando cerca del

40% del total de la iniciativas bacterianas. Además, 17 de los 65 proyectos de genomas fúngicos corresponden a reconocidos patógenos humanos, y 12 de los 39 proyectos en protistas también están dirigidos a agentes infecciosos. Bastante menos desarrollados están los proyectos de helmintos, de los cuales hay solo 9, pero 4 de ellos, los de *Schistosoma mansoni*, *Taenia solium*, *Brugia malayi* y *Trichinella spiralis*, todos en proceso, también son de importancia médica para el ser humano. En resumen, aproximadamente 440 proyectos genómicos de un total de 1327 registrados actualmente tienen que ver con agentes patógenos para la Humanidad, reflejando una de las áreas de interés fundamentales para nuestra especie.

La presente revisión no se propone ser exhaustiva, sino más bien tiene por objetivo presentar algunos ejemplos de mayor relevancia para nuestro medio con el ánimo de acercar al lector a la situación actual del estudio genómico y conocer las aplicaciones clínicas prácticas y de investigación de este gran conjunto de nuevos datos.

Genómica bacteriana

La biología molecular y la genética bacteriana han estado relacionadas desde los inicios de la investigación genética. De hecho, varios de los grandes avances médicos a partir de mediados del siglo XX estuvieron basados en el hecho de encontrar la relación de algunos genes bacterianos con la capacidad de generar enfermedad en el ser humano. A partir de los años ochenta, la biología molecular desempeñó un gran apoyo al diagnóstico en infectología, básicamente

con la aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual permitió la rápida detección de microorganismos de cultivo difícil [4].

Como se indicó, el primer genoma bacteriano reportado fue el de *H. influenzae*, trabajo publicado por Fleishman y colaboradores en 1995 [4, 5] y citado más de 2100 veces en los primeros siete años luego del logro [6]. Para el año 2000 el número de genomas de bacterias patógenas para el ser humano secuenciados completamente ascendía a 13 [7], en 2002 llegaban a 60 [6] y en 2004 había

ya 87 [4]. Al momento de esta revisión, los genomas completados de bacterias patógenas para el ser humano eran más de 130 de un total de 386 secuencias bacterianas conocidas.

Por otra parte, las comparaciones genómicas entre especies y entre cepas de un mismo organismo son recursos muy valiosos para dilucidar aspectos de la virulencia y especificidad de las distintas bacterias [6], elementos importantes en el diseño de vacunas o antimicrobianos, más aún cuando la proporción de genes únicos de cada especie ha sido estimada entre 7 y 32% [5, 7]. Esta estrategia ha sido utilizada para vacunas contra *Streptococcus pneumoniae* y *N. meningitidis*, donde múltiples genes con motivos de secreción han sido probados para evaluar su inmunogenicidad en ratones y así seleccionar productos génicos para inmunización [5].

Estudios recientes han mostrado aspectos interesantes de la genómica bacteriana. Por ejemplo, se ha visto una tremenda variación en los tamaños de los genomas bacterianos, algunos sufriendo expansiones considerables como en *Mesorhizobium loti*, una bacteria fijadora de nitrógeno asociada a plantas, o reducciones extremas como en las especies de *Bartonella*, patógenos intracelulares transmitidos por vectores. Más aun se ha encontrado en el caso de *Rickettsia prowasekii* que más del 25% de su ya reducido genoma es no codificante [6]. Además, la aparición de pseudogenes (genes truncados anteriormente funcionales) está asociada a patógenos intracelulares muy adaptados a este estilo de vida [8].

Los genomas de Archaea y Bacteria secuenciados hasta el momento varían en más de un orden de magnitud en

cuanto a su longitud, desde 600 Kb en micoplasmas hasta casi 8 Mb en *M. loti* [5, 6]. Más aun, la variación genómica dentro de una especie puede ser también considerable. Este es el caso de *Escherichia coli*, donde los tipos K-12 y O157:H7 difieren en 1 Mb, longitud que puede contener mil genes adicionales [5]. En comparación, los genomas eucariotas conocidos varían entre 3 Mb (en microsporidios intracelulares) a más de 4000 Mb en el ser humano y más en otros organismos [6]. Sin embargo, los genomas eucariotas están ampliamente adicionados de secuencias no codificantes, por lo que el contenido real de genes en algunos procariontes es en verdad mayor al de ciertos eucariotas. *Mycoplasma genitalium* es el organismo viviente más pequeño, y su genoma es de tan solo 580 kb con 265-350 genes (88% del genoma), lo que podrían tratarse del "genoma mínimo" para un organismo [5, 9].

La especiación en bacterias ha sido caracterizada luego de secuenciar múltiples cepas de varias especies, las cuales, al ser comparadas, muestran que la magnitud de la diversidad entre aislamientos de la misma especie puede variar significativamente [5]. En *Enterococcus faecium* los aislamientos han mostrado la presencia de una gran cantidad de elementos móviles, los cuales explicarían la diversidad fenotípica entre los mismos, en especial en lo que respecta a su resistencia a antibióticos [10].

El fenómeno de la variabilidad genética no es, sin embargo, obligado en bacterias. Este es el caso de las clamidias, cuyos genomas secuenciados hasta el momento revelan un alto grado de conservación. Este fenómeno no impide que existan diferencias notables

en patogenicidad, y posiblemente refleja la limitación dada por la evolución de un estilo de vida particular de las Chlamydiaceae [11].

Otro aspecto interesante que se desprende de los estudios genómicos en bacterias es que la capacidad de transferencia genética entre organismos filogenéticamente distantes, inclusive entre Bacteria y Archaea, había sido subestimada [6]. Las proporciones estimadas de genes transferidos horizontalmente en varios genomas varían de tan solo 1,6% para *M. genitalium* hasta 32,6% en *Treponema pallidum* [5]. Este tipo de transferencia genética pueden contribuir al aumento de la capacidad patogénica de un microorganismo en muchas maneras.

En cuanto a factores de virulencia, los datos muestran que mucha de la maquinaria de patogénesis bacteriana puede identificarse mediante genómica en las cepas virulentas y que se encuentra distribuida ampliamente entre las bacterias [6]. Más interesante aun resulta que estudios genómicos en *Shigella* y *Escherichia coli* comensal y enteroinvasiva han mostrado que la delección de ciertos fragmentos genómicos largos o "black holes" (hoyos negros) promueve la aparición de la virulencia en las cepas [5].

-Microarreglos y virulencia en *Helicobacter pylori*

La importancia de *H. pylori* en el desarrollo de cáncer gástrico y úlceras duodenales es bien conocida en nuestro país, dada la alta incidencia de estas enfermedades. El desarrollo de microarreglos, donde se realiza hibridaciones de fragmentos genómicos entre organismos o del mismo organismo en condiciones diferentes, para esta bacteria ha sido aplicado en

varias investigaciones para identificar las diferencias en expresión genética entre especies relacionadas y entre cepas con distintas virulencias. Así, se ha determinado que la compleja expresión genética diferencial entre estas cepas refleja la respuesta de los microorganismos ante distintas condiciones de crecimiento (particularmente de acidez del medio), y que la expresión de ciertos conglomerados de genes tiene relación con el desenlace clínico [12]. Los estudios de genómica comparativa mediante microarreglos en *H. pylori* y *H. hepaticus* han identificado la ausencia de genes de virulencia de la primera en la segunda, incluyendo adhesinas, la citotoxina VacA y casi toda la isla de patogenicidad Cag [4], de la cual carecen también las cepas avirulentas de *H. pylori* [6].

Gracias a la disponibilidad de las secuencias de los genomas de *H. pylori* y del ser humano, varios autores se han dado a la tarea de comparar la expresión genética de las células epiteliales afectadas por la bacteria, encontrándose alteraciones en genes relacionados con transcripción, transducción de señales, regulación del ciclo celular, diferenciación, factores de desarrollo, balance proliferación/apoptosis, expresión de proteínas de membrana y respuesta inflamatoria [12].

-Genómica de micobacterias

La tuberculosis continua siendo un flagelo importante en muchos países del mundo, y en el nuestro se ha observado un resurgimiento de la enfermedad, por lo que *Mycobacterium tuberculosis*, sobre la cual la genómica ha sido aplicada ampliamente, resulta de nuestro interés.

La secuenciación completa del genoma de *M. tuberculosis* fue publicada en 1998. Este genoma fue descrito como uno circular de 4,4 Mb y 3924 genes, un tercio de ellos con funciones conocidas, otro con funciones putativas y el resto con función desconocida [4]. La diversidad genética del complejo *M. tuberculosis* ha sido establecida en >99,95% de identidad genómica, y varios estudios han concluido que alrededor de 200 genes no esenciales para el crecimiento de los miembros de este complejo pueden influenciar la virulencia que éstos presenten [13].

Se ha demostrado que la cepa de *M. bovis* conocido como el Bacilo de Calmette y Guérin (BCG), utilizado como vacuna contra la tuberculosis diseminada, ha perdido varias regiones de su genoma con los sucesivos pasajes en cultivo, incluyendo 120 genes de *M. tuberculosis* H37Rv [13]. Por esto, las proteínas con capacidad de protección inmune no serían expresadas o se encontrarían en baja densidad, reduciendo la efectividad de la vacunación. Además, se ha visto una diversidad genética considerable entre las cepas de BCG, lo cual podría explicar las distintas efectividades observadas en diferentes ensayos de vacunación [13]. Grandes esfuerzos están siendo dirigidos a identificar proteínas candidatas a vacuna por medio del proteoma del bacilo tuberculoso, encontrándose cerca de 40 polipéptidos posiblemente secretados, los cuales inclusive se encuentran también en *Mycobacterium leprae*, y que, por ende, resultarían útiles inmunógenos [4, 13].

La aparición de cepas multirresistentes de *M. tuberculosis* presenta un reto importante en la lucha contra esta enfermedad, el cual ha promovido el

estudio genómico de varias rutas metabólicas como posibles blancos para nuevos fármacos. Hasta el momento, la vía del glioxilato, específicamente la enzima isocitrato liasa, ha sido propuesta por McKinney y colaboradores dada su importancia para el bacilo que se encuentra infectando macrófagos [13]. Además, luego de identificarse la presencia de 20 genes de citocromos en *M. tuberculosis*, Guardiola y su grupo proponen la búsqueda de azoles específicos para inhibir estos citocromos. Asimismo, ha sido posible identificar 44 genes del bacilo que son inducidos diferencialmente en las bacterias que se encuentran infectando a macrófagos activados con respecto a las que se reproducen extracelularmente [4].

A pesar de que comparte el mismo tropismo celular y espectro de hospederos que *M. tuberculosis*, el genoma de *M. leprae* es bastante más reducido contando con 3,27 Mb y 1605 secuencias codificantes [13] y una gran proporción de pseudogenes posiblemente en proceso de desaparecer dado el carácter intracelular obligado de esta bacteria. Resulta interesante que la mayoría de estos pseudogenes poseen pares funcionales en *M. tuberculosis*, lo que indica que ambas especies poseyeron un ancestro común bastante reciente [6].

Genómica y resistencia a antibióticos

La resistencia a antimicrobianos es un problema ampliamente distribuido en el mundo y que llega a involucrar a muchos patógenos. Mediante estudios comparativos a nivel de genoma, es posible seleccionar nuevos compuestos que no sean tóxicos para el ser humano, y que sean más específicos para un

microorganismo en particular, reduciendo la posibilidad de transferencia horizontal de genes de resistencia a antibióticos [13].

Mediante el uso de microarreglos se ha estudiado la expresión genética en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a vancomicina. Los estudios de Gaasterland (Universidad de Rockefeller, EE.UU.) han permitido el desarrollo de un microarreglo para varias cepas de la bacteria y los resultados que se desprenden muestran una considerable variación en el contenido genético del espectro epidemiológico de *S. aureus*.

En otro estudio, Holden *et al.* secuenciaron los genomas de dos cepas de *S. aureus*, una nosocomial resistente a meticilina y otros antibióticos (MRSA252) y otra comunitaria susceptible a este antibiótico (MSSA476). Los resultados de la secuenciación mostraron que las cepas poseían cromosomas de longitud, orden y contenido de secuencias codificantes bastante similares. Sin embargo, se encontró que los genomas estaban adicionados con regiones de alta y baja variabilidad [14]. El genoma de la cepa MRSA252 mostró la presencia de un número considerablemente mayor de elementos móviles que la cepa comunitaria, incluyendo islas de patogenicidad y profagos, codificando determinantes de resistencia a antibióticos.

El problema más serio detectado por los autores de este estudio es la posibilidad de que la resistencia a vancomicina en *S. aureus*, hasta ahora rara, logre afianzarse en los genomas de esta bacteria y que, eventualmente, se desarrolle una cepa resistente al mismo tiempo a meticilina y vancomicina. Lo anterior se ve reforzado

mediante los estudios genómicos que mostraron que el intercambio genético de ADN móvil es común en las poblaciones de *S. aureus* [14].

Un caso interesante de resistencia a antibióticos lo presenta *Corynebacterium jeikeium*, una bacteria multirresistente, habitante de la piel humana, y que ha sido asociada recientemente con infecciones nosocomiales. De hecho, esta especie es la corinebacteria más frecuentemente aislada en unidades de cuidados intensivos, donde se le considera un patógeno serio en pacientes inmunocomprometidos, con terapia antibiótica o con otros factores de riesgo como heridas o aparatos médicos, casi siempre causando endocarditis y sepsis de alta mortalidad. Recientemente, inclusive se le ha relacionado con infecciones en pacientes inmunocompetentes. En estudios de susceptibilidad a antibióticos se ha observado que estas bacterias son sensibles solamente a glicopéptidos como vancomicina o teicoplanina [15].

Las bases de esta multirresistencia no estaban claras hasta que Tauch *et al.* lograron la secuenciación del genoma de *C. jeikeium* K411. El análisis del genoma reveló la presencia de un gen *erm(X)*, el cual confiere resistencia a un amplio espectro de macrólidos, lincosaminas y streptogramina B, así como contra la reciente telitromicina. Más aun, se logró identificar en la secuencia varios transposones relacionados posiblemente con resistencia a bleomicina, tetraciclinas y oxacilina, y varios genes relacionados con transportadores multidroga dependientes de ATP, con antitransportadores droga:H⁺, y con bombas de expulsión de drogas y compuestos tóxicos de la familia MATE, los cuales confieren resistencia a

fluoroquinolonas, aminoglicósidos y otros compuestos no relacionados estructuralmente [15].

Genómica fúngica

Ciertamente, la genómica en el reino de los hongos no está tan ampliamente desarrollada como la de las bacterias, pero se ha hecho grandes esfuerzos para abordar el estudio de los genomas de estos organismos dada su utilidad en estudios genéticos y su importancia en patogénesis humana, animal y sobre todo vegetal, siendo este grupo sea el que posee más proyectos de secuenciación registrados en las bases de datos del NCBI entre los eucariotas.

El primer genoma fúngico secuenciado, de *Saccharomyces cerevisiae*, fue reportado por Goffeau *et al.* en 1996, y desde entonces el interés en estos organismos ha sido fundamentado en que en ellos es posible estudiar aspectos fundamentales de la biología de los organismos nucleados [16]. Seguidamente, se logró la secuenciación de los genomas de *Schizosaccharomyces pombe* en 2002 y del primer hongo filamentoso, *Neurospora crassa*, en 2003 [16].

El desarrollo de antifúngicos ha sido mucho más difícil que los antibióticos, debido a que se comparte ciertos aspectos biológicos con el ser humano, lo que hace que las alternativas terapéuticas tengan casi siempre efectos secundarios serios para el paciente, además de que la resistencia a éstos es un problema cada vez más importante.

En un interesante experimento, Cowen *et al.* estudiaron la inducción de mutaciones de resistencia a fluconazol en poblaciones inicialmente isogénicas de *Candida albicans* cultivadas en presencia de concentraciones

inhibitorias del antifúngico por 330 generaciones. Las poblaciones evolucionaron con divergencia en sus estrategias adaptativas, alcanzando diferentes niveles de resistencia de acuerdo con el mecanismo desarrollado. Mediante microarreglos, los investigadores midieron los cambios en la expresión genética de las poblaciones, y encontraron que los fenotipos de resistencia a la droga permanecieron en ausencia del fluconazol, lo cual indica que la supervivencia se debe a cambios genéticos permanentes [17].

El análisis de los genomas fúngicos hace posible predecir el rol de genes con potencial terapéutico como los que no son compartidos con el humano. De esta forma, se ha identificado 228 genes blanco probables en *Candida albicans*, los cuales son conservados en otros cinco genomas fúngicos y parece que podrían ser sujetos a inhibición con moléculas pequeñas [16].

Estudios sobre la expresión genética en *C. albicans* infectando macrófagos han revelado que las cepas virulentas sufren un cambio morfológico a la forma hifal cuando son fagocitadas. Además, se ha encontrado que la respuesta primaria de la levadura a la fagocitosis incluye la inducción de genes del ciclo del glioxilato, y específicamente el que codifica por la isocitrato liasa ha resultado necesario para mantener la virulencia observada *in vivo* [18]. Este gen, al igual que en el caso de *M. tuberculosis*, es un fuerte candidato para un nuevo antimicrobiano efectivo y selectivo.

Genómica en parasitología

La genómica en parasitología es tal vez la menos desarrollada si se le compara con el avance en los otros grupos de

agentes patógenos humanos. Sin embargo, la cantidad de proyectos dirigidos a estos organismos supera los de los principales grupos de animales y a las plantas. Ciertamente, los proyectos son casi todos de protozoarios, por lo que la genómica en otros grupos como los helmintos debe ser impulsada con mayores bríos. El avance es significativo en organismos de gran impacto en la salud pública mundial, como *Plasmodium*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, y recientemente *Trichomonas vaginalis*. A continuación, se presenta algunos de los aspectos de mayor relevancia.

-Malaria, genómica, vectores y hospederos

La malaria continúa siendo uno de los flagelos más importantes alrededor del mundo, y esta es una enfermedad que carece todavía de una vacuna de uso práctico en la clínica y que ha visto un aumento en la resistencia a las drogas utilizadas para su tratamiento. De hecho, en nuestro país recientemente se ha producido un brote importante de malaria por *Plasmodium falciparum*, lo que resalta la importancia de esta parasitosis. Afortunadamente, la genómica ha hecho un ingreso importante en el estudio de esta patología y de las relaciones biológicas de la parasitosis, y se espera que este abordaje permita solucionar muchos de los problemas que se tiene con esta enfermedad.

La terapéutica antimalárica ha hecho uso de la genómica para encontrar nuevas armas contra *P. falciparum*. Éste frecuentemente presenta resistencia a los fármacos tradicionales como la cloroquina [2], gracias a una mutación en el gen *pfcr1* [19] y esta resistencia se ha vuelto ubicua en los países endémicos. La resistencia se ha visto

también para otras drogas como la combinación de sulfadoxina-piremetamina y en el uso de piretroides para controlar al vector *Anopheles gambiae* en África occidental [20]. Actualmente, se conoce la secuencia de los genomas de *P. falciparum* y *A. gambiae*, y se encuentra en proceso la de *P. vivax*. Consecuentemente, la investigación genómica en nuevas drogas, vacunas, métodos diagnósticos e insecticidas es indispensable.

El genoma de *Plasmodium falciparum* está compuesto de 22,5 Mb distribuidas en 14 cromosomas y organizadas en 5300 secuencias que codifican proteínas, de las cuales unas 200 producen proteínas implicadas en la evasión del sistema inmune y cerca de 3200 (60%) carecen de función conocida [20]. El análisis de este genoma ha permitido establecer su fuerte dependencia de la vía de la 1-deoxi-D-xilulosa-5-fosfato (DOXP) y se logró diseñar la droga fosmidomicina, capaz de bloquear dicha vía, eliminando al patógeno sin efectos directos al humano. Dicha droga se encuentra en fases de experimentación clínica en Tailandia [2].

La aplicación de microarreglos ha permitido estudiar la expresión genética en *P. falciparum* en los distintos estadios de su desarrollo, así como en distintas condiciones ambientales como, por ejemplo, la exposición a cloroquina [20]. Los resultados que se desprenden de estos estudios permiten la identificación de posibles candidatos a inmunógenos que serían la base de una vacuna para esta enfermedad.

Finalmente, es importante notar la importancia de la genómica de los vectores de los agentes infecciosos. Recientemente, se ha publicado el borrador de la secuencia genómica de la

cepa PEST de *A. gambiae*, la cual consta de 278 Mb en 3 cromosomas que codifican unos 14000 genes [19], muchos de estos genes implicados presuntamente en la detoxificación de los insecticidas utilizados para su control. Dichos genes son ahora el blanco de muchos estudios para desarrollar nuevos repelentes e insecticidas [20]. Asimismo, la genómica ha impulsado la creación de mosquitos modificados genéticamente para ser resistentes al parásito y que serían liberados en poblaciones naturales [19].

-Genomas de los tripanosomátidos

Desde mediados de 2005 se ha publicado estudios comparativos del genoma completo de *Trypanosoma cruzi* y los borradores de *Leishmania major* y *T. brucei*. Además, en este momento se encuentra en proceso el de *L. infantum*. La situación de carencia de vacunas y de uso de fármacos tóxicos e inefectivos es similar a la que se presenta en la malaria.

Los genomas haploides de *T. brucei*, *L. major* y *T. cruzi* contienen entre 25 y 55 Mb distribuidas en 11 a 36 cromosomas diploides, y codifican cerca de 8100, 8300 y 12000 genes proteicos respectivamente [21]. Su análisis ha mostrado que aproximadamente 6200 genes son compartidos por los tres parásitos en un orden similar, y que podrían haber sido concentrados mediante transferencia horizontal [22]. Además se identificó muchos genes propuestos para enzimas hasta ahora desconocidas. La comparación de los genomas realza las diferencias en cuanto a capacidades metabólicas de cada parásito, las cuales podrían ser utilizadas para el diseño de fármacos específicos. Asimismo, muchos de los genes propios de cada especie parecen

corresponder a antígenos superficiales, ubicados en regiones teloméricas de alta variabilidad, y relacionados con las distintas estrategias de supervivencia y evasión en cada organismo [22].

Un aspecto particular encontrado en la comparación de estos genomas es el hecho de que ha habido procesos de expansión genómica en *Leishmania* o *Trypanosoma*, contrarios a la reducción propuesta para parásitos intracelulares fundamentada en organismos como los microsporidios [21].

-*Trichomonas vaginalis*: el último éxito

El último logro de la genómica en el campo de la microbiología humana se ha dado muy recientemente con la publicación del genoma del agente de transmisión sexual no viral más común y el parásito más prevalente en muchas regiones del mundo: *T. vaginalis*. El proyecto de secuenciación del ADN de este protozooario inició en 2002 y se completó en enero de 2007 gracias al trabajo de investigadores de la New York University School of Medicine. Según la publicación del borrador de la secuencia, este genoma inesperadamente grande (~160 Mb), está compuesto en cerca de un 66% de elementos transponibles y repetidos indicativos de un reciente proceso de expansión genómica [23]. Dichas características, correlacionadas con la amplificación de familias de genes relacionados con su patogénesis y la presencia de elementos metabólicos que provendrían de transferencias horizontales con bacterias, han sido implicadas en la adaptación de éste al ambiente urogenital humano. Seguramente, en los próximos años este trabajo rendirá importantes avances en el manejo de estas

infecciones tan comunes.

Genómica viral

El estudio genómico de los virus está favorecido con respecto al de los organismos celulares por su mayor simpleza estructural y una longitud genómica mucho menor. La genómica ha sido fundamental en el abordaje de las enfermedades virales emergentes, como el virus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS) y el riesgo de pandemia en 2003, obteniéndose rápidamente la secuencia de este virus por medio de cepas provenientes de varios puntos del planeta [2].

Otro campo de la virología donde la genómica ha jugado un papel preponderante es la epidemiología del virus influenza. Algunas investigaciones basadas en análisis del genoma completo del virus influenza A humano han mostrado las bases de las epidemias y pandemias causadas por este agente.

Así, un estudio realizado sobre 207 genomas de virus influenza H3N2 y 2 aislamientos del tipo H1N2 obtenidos del "Influenza Genome Sequencing Project" mostró la existencia de múltiples linajes virales circulando al mismo tiempo y la presencia de eventos de reorganización génica entre dichos linajes en períodos inter-pandemia. Una de estas reorganizaciones, luego de dos mutaciones críticas en dos residuos de hemaglutinina, parece ser la que habría dado como resultado la epidemia causada por una cepa similar a la A/Fujian/411/2002 en la temporada 2003-2004, cuando se dio una baja similitud entre la vacuna utilizada y las cepas circulantes [24, 25].

Esta investigación demuestra claramente la utilidad de los análisis de genoma completo de los virus influenza

A, sobretodo dada su importancia en la escogencia de vacunas efectivas, y que se requiere de análisis adicionales para comprender completamente los mecanismos evolutivos y la dinámica epidemiológica de estos virus. El proyecto de secuenciación genómica de influenza está siendo ampliado actualmente para incluir a la influenza aviar en procura de adelantarse a los eventos genómicos que precipitarían una pandemia en el futuro.

El futuro de la genómica

El estudio de los agentes infecciosos está viviendo grandes cambios gracias a la creciente disponibilidad de secuencias genómicas completas para los distintos organismos y de tecnologías que permiten un más amplio y comprensivo análisis de la información en estos genomas. La genómica y sus derivaciones permitirán el desarrollo de aplicaciones tecnológicas rutinarias como métodos diagnósticos como los "Biochips" o "Chips de ADN", de vacunas derivadas del proteoma y nuevos medicamentos generados por farmacogenómica. Muchos autores coinciden en que la medicina del siglo XXI estará sin duda basada en gran parte en la genómica [4].

Más aun, los grandes pasos dados hasta el momento en secuenciación de genomas abren interrogantes todavía mayores. En cada genoma secuenciado se ha encontrado un vasto número de posibles genes para proteínas de función desconocida, lo cual supone un arduo trabajo futuro en encontrar dichos propósitos. Por ejemplo, en la arquea *Aeropyrum pernix*, la cual posee más de 1500 ORF, el 57% del genoma es de función desconocida. En agentes infecciosos el panorama no es muy diferente, ya que, como se indicó, en *M.*

tuberculosis más del 40% de sus 4000 ORF carece de función asignada [6], y en *Treponema pallidum* aproximadamente un 40% de los ORF no concuerda con ningún gen con función asignada en las bases de datos [7].

El hecho de que se haya reportado la identificación de 1415 especies de organismos patógenos para los

humanos, incluyendo 538 bacterias y 307 hongos, con un contingente de enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes importante [26], hace que se vislumbre un mayor desarrollo de la genómica en este ámbito en un futuro cercano, junto con un mayor mercado para tecnologías de tamizaje y diagnóstico basadas en genómica.

Conclusiones

Sin duda alguna, el avance de la genómica en el ámbito de los agentes infecciosos para el ser humano tiene buenas razones para verse impulsado, y va a convertirse poco a poco en la base del abordaje de los procesos patológicos infecciosos.

El crecimiento de los fenómenos de multirresistencia a fármacos y el impulso a la emergencia y reemergencia de patologías infecciosas hace imperativa entonces la creación de una red internacional de monitoreo para identificar y caracterizar genotipos de los patógenos más importantes aplicando técnicas genómicas de diagnóstico.

La promoción de la genómica en materia de salud humana es una necesidad a nivel mundial. De hecho la Organización Mundial de la Salud (OMS) conformó un Comité Consultivo de Investigaciones Sanitarias sobre Genómica y Salud Mundial (CCIS) desde principios de la década en curso, el cual rindió un informe en 2001 sobre

las posibles repercusiones de la revolución genómica en la salud mundial. Dicho informe establece la obligación de los Estados Miembros de promover el uso de las tecnologías genómicas y velar porque la tecnología genómica se oriente a reducir y no agudizar las desigualdades mundiales en materia de salud [27].

Dado este panorama, cabe preguntarse en qué estado se encuentra el desarrollo de la genómica de agentes infecciosos en nuestro país. La primera impresión es que no es mucho el alcance de esta disciplina al menos en el ámbito clínico. Es por esto que los profesionales en ciencias biomédicas, y en especial los microbiólogos químicos clínicos, son los llamados a familiarizarse y mantenerse al día con el desarrollo de la genómica de agentes infecciosos, para de este modo promover la incursión de ésta en los ámbitos de salud e investigación nacionales.

Bibliografía

1. Navarro A. Los logros inesperados de la era del genoma. Apuntes de Ciencia y Tecnología.

2004. 13:30-38.

2. Cervantes E., Meléndez E., Cravioto A.

- Genómica y salud pública. Rev Fac Med UNAM. 2005. 48(4). 101(26):9786-9791.
3. Banco de Datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) de EE.UU. Consultado 29/11/06, disponible en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/VIRUSE_S/viruses.html.
 4. Meléndez E., Cervantes E., Ramos M.A., Cravioto A. Impacto de la genómica bacteriana en la medicina humana. Rev Fac Med UNAM. 2005. 48(1):18-23.
 5. Chan V.L. Bacterial Genomes and Infectious Diseases. Ped Research. 2003. 54:1-7.
 6. Doolittle R.F. Biodiversity: Microbial genomes multiply. Nature. 2002. 416:697-700.
 7. Weinstock G.M. Genomics and Bacterial Pathogenesis. Emerg Infect Dis. 2000. 6(5).
 8. Deng W. *et al.* Comparative Genomics of *Salmonella enterica* Serovar Typhi Strains Ty2 and CT18. J Bacteriol. 2003. 185(7):2330-2337.
 9. Coenye T. A golden age for microbial genomics. Genome Biology. 2003. 4(11):347.
 10. Perego M., Hoch J.A., Barrett J.F. Functional Genomics of Gram-Positive Microorganisms. J Bacteriol. 2004. 186(4):903-909.
 11. Read T.D. *et al.* Genome sequence of *Chlamydia caviae* (*Chlamydia psittaci* GPCI): examining the role of niche-specific genes in the evolution of the Chlamydiaceae. Nuc Acids Research. 2003. 31(8):2134-2147.
 12. Morales M.R., Delgado G., Cravioto A. The use of microarrays for studying the pathogenesis of *Helicobacter pylori*. Rev Latinoam Microbiol. 2003. 45(1,2):24-29.
 13. Cole S.T. Comparative mycobacterial genomics as a tool for drug target and antigen discovery. Eur Respir J. 2002. 20:78-86.
 14. Holden M. *et al.* Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains : Evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. PNAS. 2004. 101(26):9786-9791.
 15. Tauch A. *et al.* Complete Genome Sequence and Analysis of the Multiresistant Nosocomial Pathogen *Corynebacterium jeikeium* K411, a Lipid-Requiring Bacterium of the Human Skin Flora. J Bacteriol. 2005. 187(13):4671-4682.
 16. Galagan J.E., Henn M.R., Ma L., Cuomo C.A., Birren B. Genomics of the fungal kingdom: Insights into eukaryotic biology. Genome Research. 2005. 15:1620-1631.
 17. Cowen L.E. *et al.* Population genomics of drug resistance in *Candida albicans*. PNAS. 2002. 99(14):9284-9289.
 18. Straffon M. Human fungal pathogens accelerate into the genomics era. Genome Biology. 2001. 2(11):4029.
 19. Sánchez E. Una nueva era contra la malaria. Encuentros en la Biología. 2004. 94:6-8.
 20. Alibu V.P., Egwang T.G. Genomics Research and Malaria Control: Great Expectations. PLoS Biology. 2003. 1(2):142-144.
 21. El-Sayed N.M. *et al.* Comparative Genomics of Trypanosomatid Parasitic Protozoa. Science. 2005. 309:404-409.
 22. Pinholster G. Secuencias de los genomas de parásitos ofrecen esperanzas para obtener nuevos medicamentos y vacunas, informa un estudio de Science. AAAS. 2005.
 23. Carlton JM, *et al.* Draft genome sequence of the sexually transmitted pathogen *Trichomonas vaginalis*. Science. 2007. 315(5809):207-12.
 24. Ghedin E. *et al.* Large-scale sequencing of human influenza reveals the dynamic nature of viral genome evolution. Nature. 2005. 437(7062):1162-1166.
 25. Holmes E.C. *et al.* Whole-Genome Analysis of Human Influenza A Virus Reveals Multiple Persistent Lineages and Reassortment among Recent H3N2 Viruses. PLoS Biology. 2005. 3(9):1579-1589.
 26. Pompe S., Simon J., Wiedemann P.M., Tannert C. Future trends and challenges in

pathogenomics. EMBO reports. 2005.
6(7):600-605.

27. CCIS. Informe del Comité Consultivo de
Investigaciones Sanitarias sobre Genómica y
Salud Mundial. OMS. 2001.

Correspondencia:

Esteban R. Arrieta Bolaños, MQC

(cód. 1412), estudiante de Posgrado en
Microbiología. Correos electrónicos:

estebanarrieta@msn.com,

estebanarrieta@yahoo.com,

estebanarrieta25@gmail.com. Lugares

de trabajo: Laboratorios Clínicos
Echandi y Departamento de Análisis
Clínicos, Facultad de Microbiología,
UCR.