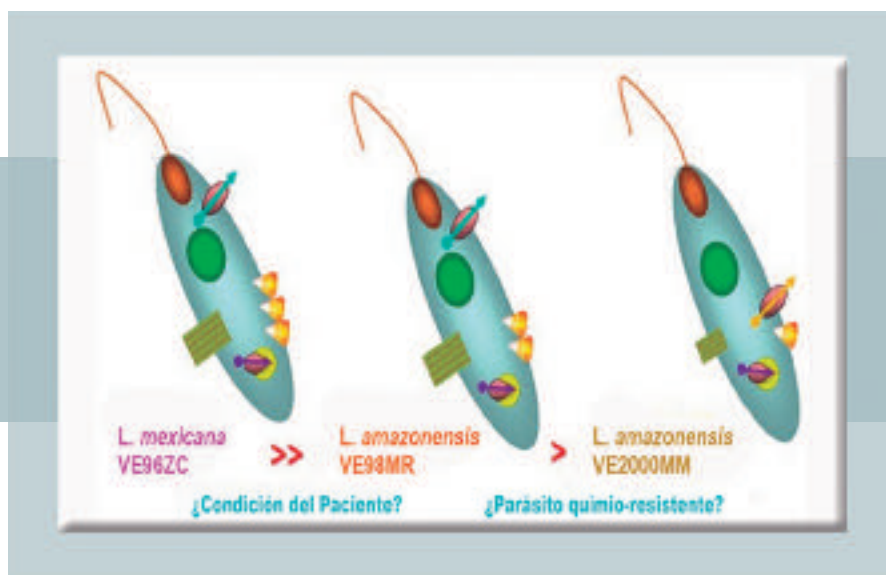


BOLETÍN



Marcadores celulares asociados a la resistencia a drogas en Leishmania

BOLETÍN



Vol. LXXX, n.º 1, 2020

Venezuela

Comisión Editorial

Deanna Marcano *Editor Jefe*
Ismardo Bonalde *Editor Adjunto*
Antonio Machado *Editor Adjunto*
Vidal Rodríguez Lemoine
Gioconda Cunto de San Blas
Alicia Villamizar
María Soledad Tapia
Charles Brewer Carías

Depósito Legal: DC2020000891

ISSN: 2665-0444

Edición Digital

Coordinación de edición

Deanna Marcano
Ismardo Bonalde

Diseño y diagramación

María Alejandra Ramírez

Diseño de portada

María Alejandra Ramírez

Publicación oficial semestral de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales
Palacio de las Academias, Av. Universidad, Apartado de Correo 1421. Caracas, 1010-A. Venezuela

El material publicado en el Boletín podrá ser reproducido total o parcialmente, siempre que se indique la fuente.

Las opiniones expresadas en los apartados firmados son de exclusiva responsabilidad de los autores.

Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales

Junta de Directores 2019 -2021

<i>Presidente</i>	Mireya R. Goldwasser
<i>Primer Vicepresidente</i>	Ismardo Bonalde
<i>Segundo Vicepresidente</i>	Liliana López
<i>Secretario</i>	Deanna Marcano
<i>Tesorero</i>	Flor Pujol
<i>Bibliotecario</i>	Vidal Rodríguez Lemoine

Individuos de Número

I.	VACANTE
II.	Arnoldo Gabaldón
III.	Antonio Machado Allison
IV.	Claudio Bifano
V.	Eduardo Buroz
VI.	Roberto Callarotti
VII.	Vidal Rodríguez Lemoine
VIII.	Carlo Caputo F.
IX.	Wolfgang Scherer Gruber
X.	María Eugenia Grillet (electa)
XI.	Jorge Mostany (electo)
XII.	Carlos Machado Allison
XIII.	VACANTE
XIV.	Benjamín Scharifker
XV.	José Grases Galofre
XVI.	Flor Helene Pujol
XVII.	Ignacio L. Iribarren
XVIII.	VACANTE
XIX.	Federico Pannier
XX.	Gioconda Cunto de San Blas
XXI.	Mireya R. Goldwasser
XXII.	Margarita Lampo
XXIII.	Deanna Della Casa de Marcano
XXIV.	Pedro Cunill Grau
XXV.	Liliana López
XXVI.	Jaime Requena
XXVII.	Carlos A. Di Prisco
XXVIII.	Franco Urbani
XXIX.	José Luis Paz
XXX.	Ismardo Bonalde

Miembros Correspondientes Nacionales

Jorge Baralt Torrijos
Pedro Berrizbeitia
Pedro Durant
Lelis Bravo de Guenni
José Rafael León
Miguel Octavio
Enrique Planchart
Pedro José Urriola
María Soledad Tapia (electa)
Alicia Villamizar (electa)
Alicia Ponte Sucre (electa)
Charles Brewer Carías (electo)

Miembros Correspondientes Extranjeros

<i>Argentina</i>	Jorge Rabinovich
<i>Armenia</i>	Gurgen P. Tamrazyan
<i>Brasil</i>	Hernan Chaimovich
	Eduardo Falabella Sousa-Aguiar (electo)
<i>Canadá</i>	Howard Alper
<i>Colombia</i>	Jorge Arboleda Valencia
<i>España</i>	Rafael Heras Rodríguez
<i>Estados Unidos</i>	Shirley Ann Jackson
	Chen Ning Yang
	Michael Clegg (electo)
<i>Francia</i>	Francois Gros
	Pierre Lena (electo)
	George Perrier
	Guillean France
<i>Italia</i>	Julián Chela Flores
<i>México</i>	Luis Esteva Maraboto
<i>Reino Unido</i>	Sir Ernest Ronald Oxburgh
	Sir John Meurig Thomas
	Audrey Butt Colson
<i>Trinidad y Tobago</i>	Harold Ramkinsoon

CONTENIDO

EDITORIAL	V
1. Discurso de Incorporación como Individuo de Número	1
<i>Margarita Lampo</i>	
2. Discurso de Contestación	6
<i>Carlos Machado Allison</i>	
3. Mundos significativos: escuchar y aprender más allá del humano. Comunicación en un mundo oscuro: un desafío científico	9
<i>Antonio Machado-Allison</i>	
4. Adaptabilidad de <i>leishmania</i> y su implicación en la resistencia a drogas.	30
<i>Alicia Ponte-Sucre</i>	
5. Foro: Coronavirus, origen, impacto y prevención	48
6. Obituario: Académico Francisco Kerdel Vegas	51
7. Guía para los autores - Boletín	52

EDITORIAL

De las actividades de ACFIMAN durante la pandemia

La Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales muestra parte de su producción editorial en este primer número del Boletín del año 2020. Aunque este periodo se ha visto cargado de varios conflictos sociales entre los cuales el problema sanitario se ha desbordado ante el panorama de la pandemia de la Covid-19, el trabajo de la Corporación no se ha detenido independientemente del distanciamiento social impuesto como medida preventiva de contagio. En este sentido, desde los albores de la epidemia en los dos primeros meses del año, ACFIMAN ya había iniciado su campaña de información sobre el tema basada en el conocimiento que en esos momentos se tenía. Tal información fue llevada a la calle en un foro popular celebrado en Chacao en el mes de febrero, que pretendió alertar a la población general de los peligros que nos asechaban e incrementarían en el futuro de no tomar las previsiones respectivas. Este foro, como muchos otros que siguieron en los cuales siempre la Corporación estuvo presente con los académicos especialistas en este tema, sirvió para prevenir y educar, aunque en parte, a la población.

En el mes de mayo, la academia publicó un primer informe sobre la situación que se esperaba en cuanto al desarrollo de la epidemia, haciendo notar las fallas que en ese momento presentaba el sistema sanitario del país para atenderla. Ello causó un revuelo en los medios de comunicación y una respuesta negativa y de descrédito por parte de personeros del Gobierno con amenazas no veladas a la Academia y a los académicos. Hubo entonces un inmediato apoyo de un sinnúmero de organizaciones académicas, organizaciones no gubernamentales y medios de comunicación, nacionales e internacionales, quienes desde entonces han estado pendientes de la opinión de nuestra Corporación.

ACFIMAN ha seguido trabajando no solo en el tema de la pandemia y con pronósticos cada vez más acertados, sino en otras cuestiones de interés para el buen vivir de los venezolanos, que a diario se hace más cuesta arriba. Para estas actividades se ha contado con la participación de otras academias y de sociedades científicas, quienes desde el punto de vista de sus ejercicios han emitido sus opiniones en varios asuntos: la situación alimentaria, el sistema sanitario, la desnutrición, la seguridad, la educación, la minería ilegal, el ambiente, entre otros, son estos los tópicos que a diario motivan las discusiones en las academias.

En otro orden de ideas, el distanciamiento social impidió las sesiones ordinarias presenciales de la Academia y en su lugar se adoptó desde mayo las reuniones virtuales por varias plataformas. Este medio de comunicación ha permitido incorporar a las sesiones aquellos académicos que por no encontrarse en Venezuela no podían asistir a las reuniones presenciales en el palacio. Ello enriqueció las discusiones y decisiones de ACFIMAN.

Este sistema de comunicación virtual ha facultado un funcionamiento bastante regular de las actividades de la Academia como, por ejemplo, trabajo de comisiones, evaluación y aprobación de Trabajos de Ingreso para Miembros Correspondientes Nacionales, decisiones sobre el mantenimiento del palacio, recepción y despacho de correspondencias, reuniones con otras academias y organizaciones para enfrentar problemas actuales. Este medio de comunicación se ha aplicado también a la entrega de los premios que ofrece la Academia a investigadores e instituciones meritorias. En este primer semestre, el Premio Arnoldo Gabaldón a Jóvenes Investigadores fue otorgado a Luis Bernardo Fargier Gabaldón y el Premio Luis Carbonell Parra, destinado a investigadores/instituciones dedicados a la conservación del ambiente, fue concedido a la Fundación Museo del Mar, Museo Marino de Margarita.

Con visión a un futuro mejor, exhortamos a nuestros miembros y a la sociedad a mantenerse activos y alertas.

Deanna Marcano

DISCURSO DE INCORPORACIÓN (*)

Margarita Lampo

- Dra. Mireya Goldwasser, presidente, y demás miembros de la Directiva de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales;
- Colegas académicos que hoy nos acompañan; Dra. Yajaira Freites, presidenta de la Directiva de la Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia (AsoVAC);
- Colegas del IVIC y otras instituciones académicas;
- Sra. Zulay Rivas Mijares, hija, y Srta. Andrea Valladares, nieta, del ingeniero Gustavo Rivas Mijares;
- Familiares y amigos todos.

Mi gratitud a los miembros de esta Corporación, quienes generosamente me han elegido como uno de sus Individuos de Número, para ocupar el sillón XXII, responsabilidad que me honra y, al mismo tiempo me compromete, a la luz de las contribuciones de mi ilustre predecesor, el ingeniero Gustavo Rivas Mijares.

Aunque es usual en estos actos de incorporación de Individuos de Número que los académicos recién electos pronuncien un elogio de la trayectoria de quien los precediera en el sillón, y a continuación nos relaten la suya propia, voy a hacer algo un poco diferente. Voy a intentar entretener nuestras trayectorias e identificar puntos en los temas que nos unen y así tomar el testigo que corresponde en el relevo del sillón XXII.

Comenzaré por el final. Me atreveré a identificar sus más importantes contribuciones para luego indagar sobre cómo llegó allí, qué lo motivó a ser científico, y en qué contexto desarrolló su trayectoria científica.

Gustavo Rivas Mijares logra, en primer lugar, vislumbrar tempranamente el papel fundamental que jugaría el agua como un recurso de suma importancia para las economías y para el desarrollo de los países. En segundo lugar, entiende la importancia del espacio geográfico y sus características, en los procesos que determinan la calidad del agua, y se encomienda a la tarea de desarrollar una ingeniería sanitaria adaptada al medio tropical. En tercer lugar, a pesar de su formación como ingeniero y no como investigador, reconoce la importancia de

la investigación científica en la docencia, como instrumento para generar conocimiento. En particular, la necesidad de incorporar en las escuelas de ingeniería la investigación científica, para lograr innovaciones y tecnologías adaptadas a nuestra idiosincrasia. Y en cuarto lugar, reconoce el valor de las instituciones, por encima de las personas, como órganos indispensables para que las sociedades avancen.

Volvamos ahora al principio ¿Qué le motivó a ser ingeniero sanitario? Rivas Mijares nació el 7 de noviembre de 1922, durante la dictadura de Gómez, en la ciudad de Valencia; una ciudad tranquila, parroquiana, con veinte mil habitantes. Tenía tranvías, botiquines y salas de cine en donde se proyectaban películas silentes. Un acontecimiento que presencié y le impactó de niño, según relata en su biografía *Reminiscencias de Antaño*, fue la visita a Maracay del aviador Charles Lindbergh en el Spirit of Saint Louis, uno de los primeros aeroplanos que cruzara, sin escalas, el océano Atlántico.

Durante su bachillerato, Rivas Mijares se interesó por las letras, la pintura y la música, pasión que heredó de su padre. Llegó a presentarse como tenor en el Ateneo de Valencia. A pesar de su entusiasmo por el canto, su familia —según testimonio propio— lo convenció de escoger una profesión de mejor proveer. Y como también le gustaban las matemáticas, el cálculo, el álgebra, la trigonometría y la geometría, decidió estudiar ingeniería. Eso sí, nunca abandonó su afición por el canto, por las letras, o la pintura. Llegó a cantar piezas operísticas en la radio, escribió poemas, y hasta muy avanzada

(*) Corresponde al Discurso de Incorporación de la Dra. Margarita Lampo en ocasión del Acto protocolar de su investidura como Individuo de Número de la Corporación para ocupar el Sillón XXII, celebrado en el Paraninfo del Palacio de las Academias el día 04 de marzo, 2020.

edad, pintó y, cada sábado, acompañó a exhibiciones de arte a su hija menor, Zulay, quien hoy nos acompaña. (Gracias Zulay)

Rivas Mijares ingresó en la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central de Venezuela en 1941, cuya sede funcionaba en el ala este de la planta baja de nuestro Palacio de las Academias. Se graduó *Cum Laude* en 1945, año en que se lanzaron las primeras bombas nucleares que pusieron fin a la Segunda Guerra Mundial. Comenzaban entonces décadas de avances científicos y de progresos avasallantes. En los cinco años que le siguen a su graduación, se incorporó como ingeniero de campo al Instituto Nacional de Obras Sanitarias (INOS), recién creado por el presidente Medina Angarita. Trabajó en el diseño de sistemas de alcantarillado, pero pronto el INOS lo becó y se fue a la Universidad de Michigan a estudiar ingeniería sanitaria, en donde obtuvo su título en 1950. La ingeniería sanitaria era una carrera poco común en aquel entonces. Cuatro años después de su graduación, la revista *Public Health Reports* contabilizaba apenas 216 egresados a nivel de pregrado y 164 a nivel de posgrado en ingeniería sanitaria en todos los Estados Unidos. Es decir, de sus universidades egresaban entre dos y tres ingenieros sanitarios por cada millón de habitantes norteamericanos. Hoy en Estados Unidos se estiman casi 200 empleos en ingeniería sanitaria por cada millón de habitantes.

¿Qué motiva entonces a Rivas Mijares a seguir una carrera de ingeniería sanitaria? En una entrevista publicada en 1990 en el periódico *El Carabobeño*, explica: «Posiblemente en forma inconsciente la inclinación me viene por haber sufrido en carne propia una serie de enfermedades ambientales que resultan de un medio insano como el que existía para la década de los treinta».

Durante la década del 50 el agua se consideraba un recurso abundante y su manejo se enfocaba fundamentalmente en el balance hídrico de cuencas particulares. Es en los años 60 cuando se hace evidente el problema de eutrofización, de contaminación química de los reservorios de agua y la necesidad de enfocar esfuerzos hacia la restauración de la calidad del agua. Pero Rivas Mijares ya se había adelantado a trabajar sobre este tema. En los sesenta, presidió la Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria, formó parte del Directorio de la *International Association for Water Pollution Research* y fue coeditor de su revista, *Water Research*. Estas asociaciones tenían como objetivo promover la investigación científica en torno al problema de la creciente contaminación de las aguas, como resultado del crecimiento urbano y la industrialización, tal y como lo siguen teniendo hoy.

En esa década de los sesenta, Venezuela vivía la bonanza económica gracias a una pujante industria petrolera. En esos años nací yo. Mi infancia entonces transcurrió en una Caracas moderna, en donde no había tranvía sino autobús, y la

televisión ya desplazaba a un cine con color y sonido. Caracas estaba entre las ciudades latinoamericanas con los mejores servicios de abastecimiento de agua. Sus sistemas Tuy I, Tuy II y Tuy III habían sido construidos entre la década del 50 y el 60. El agua nunca faltó en mi casa.

Al igual que Rivas Mijares, de joven me interesé por la música. Estudié solfeo, armonía y piano, actividades a las que todavía hoy dedico buena parte de mi tiempo. Supe, sin embargo, que mi carrera sería científica. También fui testigo, 47 años después que Rivas Mijares conociera el Spirit of San Louis, de uno de los hitos de la aviación comercial: la visita del Concorde a Venezuela en 1976, capaz de cruzar el Atlántico en 3 horas y media a una velocidad que duplica la velocidad del sonido. Tenía 13 años cuando fui a Maiquetía a verlo. Pocos años después me gradué de bachillerato y comencé a estudiar zoología en la Universidad de Maryland. Eran tiempos de la Guerra Fría. Habían pasado ya 40 años de las bombas nucleares, y el presidente Ronald Reagan anunciaba su iniciativa de defensa estratégica, La Guerra de las Galaxias, que terminó siendo el mayor fraude tecnológico y científico de todos los tiempos.

En ese entonces, Rivas Mijares trabajaba empeñado en desarrollar una ingeniería sanitaria adaptada. En un trabajo que publicó en los años 80 en la revista *Water Science Technology* insiste en que las tecnologías desarrolladas en países templados industrializados no son del todo adecuadas para abordar el tema de manejo del agua en los países tropicales. Y explica (1) el clima tropical incide sobre la variabilidad de los procesos. La magnitud y variabilidad de los parámetros con base a los cuales se diseñaban procesos de tratamiento de agua, por ejemplo, la densidad específica del agua, las tasas de sedimentación de las partículas, los umbrales del oxígeno disuelto y su repercusión sobre la fauna acuática autóctona debían adaptarse a las condiciones climáticas locales. Había que definir parámetros locales. (2) Los patrones socio culturales, radicalmente diferentes, definían otras necesidades. Por ejemplo, nuestras aguas servidas tenían características disímiles porque las dietas nuestras diferían de la de los países templados. También había diferencias sustanciales en la microflora responsable de la descomposición de los complejos orgánicos contenidos en las aguas residuales y los patógenos tropicales tenían respuestas totalmente diferentes. Y (3) nuestros recursos limitados no permitían el diseño de plantas sofisticadas. Había, entonces, que adoptar una nueva manera de abordar el problema del agua y nuestros países no tenían los conocimientos básicos para desarrollar estas tecnologías adaptadas.

Rivas Mijares entonces estudió procesos autóctonos para definir parámetros propios y diseñó instalaciones prototipos a escala de laboratorio, para el estudio experimental de estos

procesos. También escribió libros, casi todos hoy textos indispensables para el estudio de la ingeniería sanitaria en países tropicales.

Mientras Rivas Mijares gozaba de un liderazgo regional en la ingeniería sanitaria y ambiental y sus trabajos eran considerados una contribución significativa al mejoramiento de la salud de miles de personas en zonas tropicales, yo apenas comenzaba mi carrera.

En 1985, año en el que obtuve el título de zoóloga y regresé a mi país, Rivas Mijares acababa de publicar un trabajo en el que evaluaba el estado de desarrollo de las ciencias ambientales en el país, disciplina que marcaría no sólo su trayectoria, sino la mía también. Sólo en Caracas, ya siete instituciones tenían programas relacionados con las ciencias Ambientales: la Facultad de Ingeniería de la UCV, el Centro de Estudios Integrales del Ambiente CENAMB, la Universidad Simón Bolívar, la Universidad Católica Andrés Bello, la Universidad Metropolitana, el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, el Instituto Universitario de las Fuerzas Armadas y la Facultad de Ciencias de la UCV, a la que ingresé.

Al igual que Rivas Mijares, me interesó la ciencia aplicada a problemas locales. Durante mi tesis doctoral exploré, a través de experimentos en microcosmos y del desarrollo de un modelo matemático, la posibilidad de usar un insecto parásito como agente de control biológico para reducir la incidencia de una plaga del sorgo: la mosquita del sorgo. Más tarde cambiaría los insectos por anfibios. Pero no modificaría la manera de abordar los problemas combinando el trabajo de campo, la experimentación en el laboratorio y los modelos matemáticos para entender procesos.

Al comienzo de la década de los noventa tuve la oportunidad de trabajar en un segundo proyecto sobre control biológico. En víspera de defender mi tesis doctoral, el Commonwealth for Scientific and Industrial Research Organisation de Australia me contrató en un proyecto de colaboración con el IVIC, que tenía como finalidad encontrar una solución para reducir las densidades de sapos en Australia utilizando algún agente viral aislado de Suramérica, de donde la especie es autóctona. Fue la oportunidad de ingresar al IVIC. El IVIC en aquellos tiempos estaba a la vanguardia en muchos campos científicos y pudimos desarrollar un programa multidisciplinario, en el que participaron varios de sus laboratorios. El virus que aislamos no sirvió como agente de control porque tenía la capacidad de saltar a otras especies perjudicándolas. Sin embargo, identificamos diferencias fundamentales entre las poblaciones australianas y suramericanas que contribuyeron a entender el porqué del crecimiento desproporcionado de esta especie en Australia y han orientado el diseño de nuevas estrategias para

el control de esta especie invasiva.

Pero ¿Por qué habría que controlar a un sapo? El sapo común había sido introducido deliberadamente en Australia en los años treinta para controlar un insecto plaga de la caña de azúcar, pero se había convertido en una amenaza para la fauna australiana. Hoy el sapo común se encuentra entre las 100 peores especies invasivas del mundo. Lamentablemente, para el momento de su introducción en los años treinta, no se conocían los efectos devastadores que podían tener las especies invasivas sobre la pérdida de especies, fenómeno que hoy forma parte de lo que denominamos la crisis de la biodiversidad, y que se convertiría en el *leitmotiv* de mi carrera científica, al igual que la crisis del agua sería el *leitmotiv* de Rivas Mijares.

Hoy, el agua y la biodiversidad se consideran elementos indispensables para la vida del hombre. Por ello, la ONU incorporaría en el año 2000 el acceso al agua potable como una de las metas de desarrollo del Milenio para el 2015 y, ese mismo año, añadiría la protección de la biodiversidad entre las metas de desarrollo para el año 2030.

Mientras intentábamos diseñar estrategias para mitigar los daños del sapo común en Australia, se hablaba en la comunidad científica de la desaparición de otros anfibios en zonas prístinas como un fenómeno global sin explicación. Desapariciones enigmáticas, así se llamaron hasta que se descubrió que un hongo que afecta la piel de los anfibios era la causa. Un hongo que se transmite por el agua. El enigma consistía en que nadie podía imaginar que las quebradas de estos lugares, sin aparente perturbación humana, estaban contaminadas con un hongo. Un hongo que se diseminó por todo el globo terráqueo como consecuencia del comercio de ranas, unas para el desarrollo de pruebas de embarazo y otras para el consumo humano durante la segunda mitad del siglo XX. Sólo en la década de los noventa, en Venezuela desaparecieron nueve de diez especies de ranas de un solo género, el género de las Ranas Arlequines. Unas ranas vistosas, por el contraste de sus colores, hoy ausentes de todas las quebradas debido a lo que llamamos una *contaminación patogénica* del agua. Y es que los anfibios se consideran indicadores de la calidad de agua, porque sus larvas tienden a ser más sensibles a la contaminación que otros organismos vertebrados. Una vez más, el agua como recurso vital para los seres vivos, nos une en nuestra motivación.

Iniciamos entonces, en el IVIC, un programa de investigación que buscó en primer lugar entender la relación entre las desapariciones de anfibios de Venezuela y este hongo y, en segundo lugar, explorar por qué algunas especies sucumben a la infección y otras no.

Encontramos evidencias de infección con el hongo en los últimos ejemplares depositados en museos de tres de las nueve

especies desaparecidas. Y a la única especie de rana arlequín que queda en nuestro país, el Sapito Rayado de la cordillera de La Costa, he dedicado los últimos 15 años de mis investigaciones. De esta especie solo se conocen dos relictos poblacionales, uno en el río Cata y otro en el río Cuyagua. Gracias a un programa de monitoreo que llevamos a cabo durante ocho años en el río Cata, identificando mes a mes cada individuo y su estatus de infección con el hongo, hoy sabemos que el hongo sigue siendo letal para los sapitos rayados que quedan. Sin embargo, estas dos poblaciones se mantienen estables gracias a que el contagio es bajo en estas localidades - que son cálidas- debido a la sensibilidad de su zoospora a las altas temperaturas.

También entendemos mejor el riesgo que corre la especie. En el pasado este hongo produjo epidemias que afectaron a poblaciones en más de 4.000 km². Hoy estimamos que esta especie ocupa menos de 8 km². Si las tasas de contagio aumentan debido a cualquier evento climático, sólo se requieren unos pocos brotes epidémicos para borrar a la especie de la faz de la tierra. Este programa de monitoreo del sapito rayado, uno de los pocos en anfibios con tan larga duración, se ha convertido en un modelo para las otras 20 especies de ranas arlequines en peligro crítico en el resto del continente. De él se han derivado parámetros demográficos y epidemiológicos necesarios para el diseño de estrategias de manejo *in situ*.

Hoy se estiman en 500 las especies afectadas por este hongo que ha sido responsable de la mayor pandemia conocida en términos de extinción de especies de vida silvestre. Noventa especies se presumen ya extintas por el hongo. Todo esto en tan sólo medio siglo. Las movilizaciones de organismos como resultado de la globalización después de la Segunda Guerra Mundial han adquirido escalas sin precedentes geológicos, que han repercutido significativamente no solo sobre la salud humana como nos lo evidencia el COVID-19, sino también sobre la distribución global de la diversidad biológica y sobre el funcionamiento de muchos ecosistemas. ¿Qué hace que algunas comunidades sean más propensas a ser invadidas que otras? ¿Qué hace que algunas especies sean más invasivas que otras? Son cuestiones fundamentales que apenas comenzamos a entender, gracias al reciente desarrollo de herramientas matemáticas y estadísticas. Estas preguntas las intenté abordar en la monografía que presenté ante esta Academia como requisito para mi ingreso.

La combinación de múltiples herramientas de diferentes disciplinas —matemáticas, microbiología, genética, ecología y taxonomía— ha sido fundamental para encarar el problema de pérdida de la diversidad biológica. Hace unos años, sin embargo, era poco común encontrar zoólogos o ecólogos con destrezas distintas a su propia especialidad. Nuestros programas formaban fundamentalmente especialistas. Por

ejemplo, los herpetólogos eran taxónomos que describían la historia natural de las especies, pero pocos manejaban herramientas matemáticas o sabían de microbiología o biología molecular. Como docente intenté cambiar el perfil de las nuevas generaciones de ecólogos, diseñando programas de formación que integraran herramientas de diversas disciplinas. Creo que hoy nuestros estudiantes tienen perfiles más idóneos para abordar problemas ecológicos que en el pasado.

Así mismo, Rivas Mijares también intentó reformar la enseñanza de la ingeniería sanitaria en el país. A su regreso a Venezuela se inició como docente en la UCV y fundó la Cátedra y el Departamento de Ingeniería Sanitaria en esta misma universidad. Rivas Mijares pensaba que no era posible lograr un nivel académico aceptable sin establecer, paralelamente a la transmisión de conocimiento, actividades de investigación. En las ingenierías no era lo habitual. Implementó las investigaciones de cátedra y soñó con establecer un centro de investigación de ingeniería sanitaria para zonas tropicales. Presentó ante la Organización Panamericana de la Salud un programa de enseñanza para este proyecto que lamentablemente no se ejecutó.

Finalmente, Rivas Mijares y yo coincidimos ahora en el sillón XXII de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales. Desde esta silla y desde muchos otros cargos institucionales que ocupó, en academias extranjeras, el Vicedecanato de la UCV, el Consejo Superior de la USB, Consejo Directivo del IVIC y muchos otros, Rivas Mijares trabajó por fortalecer las instituciones científicas porque creía en ellas por encima de las personas. En esta Academia trabajó en una estructura organizativa que nos permitiera abordar temas científicos de diversa índole. Ahora me toca el testigo para continuar fortaleciendo la institución científica, siguiendo su ejemplo. El proyecto de difusión a través de audios, El progreso tiene su ciencia, es un esfuerzo en ese sentido. Su objeto es visibilizar la labor de esta academia y la de los científicos venezolanos. En uno de ellos quedó retratado Gustavo Rivas Mijares.

¿Cuál es mi compromiso ahora? Seguir construyendo sobre el conocimiento y aplicarlo a problemas de conservación de fauna silvestre. El reto inmediato es el establecimiento de colonias en cautiverio del Sapito Rayado que sirvan de respaldo, en caso de que se produzca nuevos brotes epidémico que puedan comprometer a las pocas poblaciones silvestres que quedan de esta especie en peligro crítico.

Finalmente quisiera aprovechar este reconocimiento a mi persona para identificar a aquellos en los que yo me he reconocido porque al final, como dice Martin Buber, el ser humano es quien es en su relación con el otro. Los primeros

en quienes nos reconocemos son nuestros padres y hermanos. En ellos reconocí mis capacidades, valores y principios. En mi amiga de la infancia, Adriana Di Polo, me reconocí desde niña en mis preferencias y mis querencias. En mi maestra de biología, Trina Quintero, me reconocí en mi profesión; en mis profesores de la universidad, Doug Gill, Jim Ott en EEUU y Diego Rodríguez, Jesús Alberto León y Luis Bulla,

recién fallecido, me he reconocido como científica y como docente. En mis hijos, Santiago y Jimena, me he reconocido en la motivación por ser grande sabiéndome pequeña y en Jaime, quien me ha acompañado ya por un cuarto de siglo, me reconozco en nuestra complicidad.

Gracias a todos.

DISCURSO DE CONTESTACIÓN (*)

Carlos Machado Allison

- Dra. Mireya Goldwasser, presidente, y demás miembros de la Directiva de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales;
- Colegas académicos que hoy nos acompañan;
- Dra. Yajaira Freites, presidente de la Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia (AsoVAC);
- Sra. Zulay Rivas Mijares, hija, y Srta. Andrea Valladares, nieta, del ingeniero Gustavo Rivas Mijares;
- Familiares y amigos todos.

Constituye un honor contestar el discurso de incorporación de la doctora Margarita Lampo a la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales. Un honor porque conocemos su brillante trayectoria y esa rara cualidad que es combinar el conocimiento, con sensibilidad y bonhomía, ese galicismo que se aplica a quien reúne las virtudes de la sencillez, la afabilidad, la bondad y la honestidad. Amén de su dominio de disciplinas como ecología, genética y evolución, maneja la bioestadística y campos de la computación en profundidad. Combina su sólida formación teórica con un incansable trabajo de campo, carga con igual facilidad un paquete de densos libros, una computadora o una pesada mochila en la espalda, mientras escala la empinada cuesta de un tepuy, se lanza en Parapente y lleva el timón de un velero, con frecuencia acompañada en su incansable periplo por su esposo e hijos.

Margarita Lampo obtuvo su Bachelor of Sciences en la University of Maryland, 1985, y luego su doctorado en la Facultad de Ciencias en la Universidad Central de Venezuela en 1991, Posteriormente, realizó un postdoctorado en la Universidad de Princeton. Su carrera como investigador fue realizada en el IVIC y desde 2006 tiene la categoría de Titular. En esa misma institución fue coordinadora de la Unidad de Información Geográfica, jefe del Laboratorio de Ecología y Genética de Poblaciones y coordinadora del Postgrado en Ecología. Cuenta con más de 40 publicaciones en revistas arbitradas y capítulos de libros, así mismo ha sido directora de las tesis de pre y postgrado de un elevado número de estudiantes. Ha sido miembro de la Junta Directiva de

FUDECI, de la Comisión Técnica de Ambiente del FONACIT y del Consejo Nacional de Fauna Silvestre. En el año 2016 se incorporó a la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales de Venezuela como Miembro Correspondiente.

Los organismos se trasladan e invaden nuevas áreas en uno de los procesos más complejos e interesantes que conocemos. Es un fenómeno que expone al invasor a condiciones distintas a las de su punto de origen y altera de algún modo la paz del vecindario. Con cierta frecuencia las consecuencias son dramáticas. Sin ir más lejos debemos recordar el notable impacto que tuvo sobre la fauna de América del Sur la migración procedente del norte al entrar en contacto las dos grandes masas continentales en el Cuaternario. Un elevado número de mamíferos suramericanos, entre ellos marsupiales y edentados, se extinguieron, víctimas de nuevos depredadores como los grandes felinos y otros por ser desplazados de sus hábitats naturales o por competencia por recursos. La colonización de las islas Galápagos, entre otras cosas, fue uno de los fenómenos que inspiró a Darwin para sentar las bases de la teoría evolutiva en el siglo XIX.

La atención del mundo científico se trasladó del estudio de las invasiones del pasado a las del presente cuando en 1910 los olmos en Europa fueron afectados por un hongo transmitido por un escarabajo de la familia Curculionidae. En 1927 un cargamento de madera procedente de Europa introdujo al hongo en los Estados Unidos y entre ese año y 1990 alrededor de 77 millones de árboles, paradigmáticos en muchas zonas, fueron arrasados por el hongo. A lo largo del siglo XX y XXI

(*) Discurso de Contestación a nombre de la Corporación, al discurso de la Dra. Margarita Lampo en el Acto su incorporación como Individuo de Número, Sillón XXII, Parainfo del Palacio de las Academias. Caracas, 04 de marzo de 2020.

umentaron significativamente las referencias a especies invasoras por su impacto en la agricultura y la forestería. En la epidemiología humana abundan ejemplos de la importancia de los “invasores” y su impacto en poblaciones que previamente no había estado expuestas a ciertos patógenos. *Aedes aegypti*, originario de África, fue introducido en una fase temprana del contacto entre el viejo y el nuevo mundo, y todos sabemos las consecuencias que persisten hasta la actualidad: fiebre amarilla, dengue y otras virosis. Conocer la biología, la ecología y la genética de los invasores constituye en tema de gran importancia en diversas disciplinas y la Dra. Lampo lo sabe muy bien.

En la actualidad, muchos gobiernos hacen grandes esfuerzos, con costos elevados, para impedir el ingreso a su territorio de organismos procedentes de otras latitudes. Existen razones de peso y múltiples experiencias, algunas dramáticas, del impacto de esas introducciones o invasiones. Los más conocidos son la ya citada enfermedad holandesa de los olmos en los Estados Unidos y la de los conejos en Australia. La explicación general a este fenómeno está relacionada a las múltiples y complejas relaciones entre la fauna y la flora de una región, que establecen un cierto equilibrio dinámico sobre el tiempo, mismo que puede ser fracturado por una especie invasora. Pero sin duda la pregunta de por qué esto ocurre con unos invasores y no con otros sigue abierta y la contribución de la Dra. Lampo está dirigida a entender este fenómeno.

Existen, sin duda, dos buenas razones para abordar este tema. Una es la intensificación del comercio internacional y de las migraciones humanas, ese fenómeno que ha sido designado como globalización. Millones de toneladas de alimentos, semillas y otros bienes que pueden albergar organismos exóticos, como con frecuencia han sido designados, se trasladan de una región a otra, de un continente a otro. Así mismo, todos los días se trasladan millones de pasajeros entre países a veces muy distantes. La magnitud es tal, como bien lo cita la Dra. Lampo, que uno de los más ilustres entomólogos norteamericanos, con amplia competencia en la dinámica de poblaciones, Francisco Pimentel, señalaba hace algunos años la presencia de unas 50.000 especies invasoras en el territorio norteamericano y una factura negativa superior a los 120 mil millones de dólares por pérdidas en los cultivos.

Pero las invasiones no sólo ocurren por accidente. Con cierta frecuencia han sido decisiones basadas en ciertas premisas y una lógica económica. Los ejemplos son muchos; bovinos, cerdos, gallinas, búfalos, caballos, arroz, caña de azúcar, muchas hortalizas, raíces, tubérculos y frutales han sido llevados de un continente a otro de la mano del hombre. En cada caso, y no necesariamente bien estudiados, cada introducción ha causado impacto sobre los ecosistemas preexistentes.

El tema, ya estudiado por muchos años y alimentado por varias hipótesis, sigue teniendo pertinencia, no sólo en la procura de una teoría central, sino en las soluciones prácticas y de valor económico. En el trabajo de incorporación se revisa cada una de esas hipótesis que tienen sólida sustentación y que se refieren tanto a características propias de los organismos invasores, como de los ecosistemas donde tienen éxito en su colonización o fracasan en el intento. Puedo recordar bien las ideas plasmadas hace varias décadas sobre este problema, entre ellas, cuando yo era estudiante, las de Elton en 1958, que señalaba que los ecosistemas perturbados eran más susceptibles de ser invadidos que los naturales o prístinos como los denominan otros autores.

Otras explicaciones se refieren a las capacidades competitivas, la mayor vulnerabilidad de las islas, el mayor éxito de aquellos que por ser diferentes tienen menos competidores y así sucesivamente. Puedo recordar explicaciones basadas en las estrategias *r* y *K*, muy de boga en las décadas de 1970 y 1980.

En Venezuela existen muchas especies introducidas, en particular plantas cultivadas desde hace muchos años y otros organismos de presencia reciente como la rana toro, el caracol africano, la tilapia y el llamado pez león. Los insectos introducidos, así como hongos, bacterias y virus, son numerosos y entre ellos algunos bien conocidos por su impacto económico, como la broca del café, en la década de 1980 la llamada tristeza de los cítricos y en años recientes el caso del Dragón Amarillo, causada por una bacteria *Candidatus liberobacter* procedente de China, en los cítricos.

Sin embargo como bien lo señala la Dra. Lampo, siguen en pie las tres preguntas fundamentales: (1) ¿Qué atributos determinan que una especie se vuelva invasiva o que no lo sea? (2) ¿Qué características determinan que un ecosistema sea vulnerable o no a ser invadido? y (3) ¿Cómo podemos diseñar estrategias de manejo de sistemas con el conocimiento hasta ahora adquirido? Quizás, dada la enorme diversidad de los organismos vivos no exista una respuesta universal.

Selecciona la investigadora a dos organismos bien diferentes. Un anfibio, *Rhinella marina*, quizás el más común de los sapos y *Batrachochytrium dendrobatides*, un hongo responsable de la quitridiomycosis, enfermedad que ha causado la eliminación de muchos anfibios en distintas partes del mundo. De ambos existe abundante información sobre su biología y ecología y por ende, son buenos modelos para abordar este tema tan importante.

Los resultados son contrastantes e ilustran la importancia de los estudios sobre especies invasoras. El caso del sapo común tiene su historia. Con el propósito de controlar al

escarabajo de la caña, en 1935 se llevaron 102 sapos a Australia procedentes de Hawái y gracias a su facilidad de reproducción en cautiverio, para agosto de ese año se liberaron más de 3.000 en el norte de Queensland. Este proceso se repitió en otros sitios y se estima que en la actualidad la población supera los 200 millones de individuos. Su rápida dispersión y probablemente su gran tamaño y antecedentes previos como los daños causados por la introducción de conejos, alertó al CSIRO y se destinaron importantes recursos para controlar al invasor a nivel nacional y local, sin embargo la evidencia recabada no parece indicar ninguna extinción causada a este anfibio.

Caso opuesto de los conejos, ya que los 24 animalitos liberados por un hacendado de apellido Austin en 1859 para satisfacer sus hábitos de cacería, han generado por siglo y medio toda clase de problemas ambientales. Los conejos se transformaron en una plaga agrícola importante y para 1920 se estimaba que la población australiana superaba los mil millones y la competencia por el alimento y la ocupación de madrigueras determinaban la extinción de muchos marsupiales. Luego importaron zorros de Europa para controlarlos y el remedio resultó peor que la enfermedad, los zorros preferían atacar a marsupiales lentos que a conejos rápidos y también capturaban aves insectívoras que mantenían bajo control a algunas plagas. El impacto negativo de estas invasiones sobre los ecosistemas australianos ha sido bien documentada.

En la década de 1950 se introdujo el virus de la mixomatosis y se logró reducir el número de conejos, pero pronto actuaron los mecanismos selectivos y surgió resistencia. Más recientemente han tratado, parece que con más éxito, utilizar otro virus. Pero a fin de cuentas el costo del capricho del señor Austin le ha costado más de 300 millones de dólares al gobierno australiano, quizás aún más a los productores, así como las incalculables pérdidas en la diversidad biológica de ese continente.

En todo caso, nos señala la Dra. Lampo, el éxito del sapo está centrado más en la inexistencia en su nuevo entorno de enemigos naturales como depredadores y parásitos, una

explicación que también podría ser válida, espejismo, en el caso del pino caribe y de los eucaliptos introducidos en Venezuela por decisiones gubernamentales y que aún requieren estudios más profundos. Satisfacen los resultados obtenidos a una de las hipótesis adelantadas previamente sobre las invasiones, sin embargo persisten efectos aún no conclusivos sobre el envenenamiento de algunos depredadores de gran tamaño como serpientes y cocodrilos que pueden ser afectados debido a las sustancias tóxicas que posee *Rhiniella marina*. No debemos pasar por alto que el temor de un impacto mayor, se tradujo en el financiamiento de muchos trabajos de investigación sobre especies invasoras.

El caso del hongo es distinto. Como consecuencia del comercio, a veces ilegal, de anfibios, una cepa particularmente virulenta de *dendrobatidis* ha causado epidemias extendidas y mortalidad masiva de muchos anfibios. El hongo ha sido encontrado en 695 especies, pertenecientes a 66 familias diferentes y en 76 de los 102 países que han sido evaluados. Hoy la quitridiomycosis se encuentra entre las enfermedades de relevancia global y notificación obligatoria. La masiva y violenta dispersión de éste patógeno está muy probablemente asociada a la resistencia de las zoosporas que sobreviven fuera de sus hospedadores. Ilustra la exposición de la doctora Lampo, la importancia que tienen las investigaciones sobre la distribución, genética, historias de vida, dinámica poblacional y ecología de nuestra fauna.

Es necesario y de rigor, señalar que Margarita Lampo ha cumplido con los requisitos para ser incorporada como Individuo de Número a la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, al sumar sus méritos como investigadora a otras cualidades deseables en nuestra corporación, como son su capacidad de liderazgo, la pertinencia de sus observaciones y preocupación por el devenir de la ciencia en nuestro país. Sea usted muy bienvenida a la Academia donde, con certeza, usted la realzará con su presencia.

Gracias.

MUNDOS SIGNIFICATIVOS: ESCUCHAR Y APRENDER MÁS ALLÁ DEL HUMANO COMUNICACIÓN EN UN MUNDO OSCURO: UN DESAFÍO CIENTÍFICO

Antonio Machado-Allison^{1,2}

RESUMEN

La búsqueda, análisis y conocimiento de las peculiaridades biológicas de los organismos es una necesidad básica para comprender sus relaciones con conspecíficos y con el ambiente que lo rodea. Los peces desarrollan órganos particulares que les permiten producir señales diferentes que les facultan su comunicación, asociación, búsqueda de recursos, alarma o escape de predadores. En los peces neotropicales este tipo de comunicación es variada y en este trabajo presentamos tres de ellas muy importantes en un mundo oscuro de ríos de aguas turbias. La comunicación por sonido, la química y la eléctrica son discutidas utilizando ejemplos de peces comunes que viven en estos ambientes. Se revisan las diferentes hipótesis ecológicas y evolutivas que les ha permitido su integración exitosa.

ABSTRACT

The search, analysis and knowledge of the biological peculiarities of organisms is a basic necessity to understand their relationships with relatives and with the environment around them. Fish develop particular organs that allow them to produce different signals that enable them to communicate, promote association, resource search, alarm or escape from predators. In neotropical fish species this type of communication is varied, and in this work we present three of them being very important in a dark world of rivers with murky waters. Sound, chemistry and electrical communication are discussed using examples of common fish living in these environments. The different ecological and evolutionary hypotheses that have allowed them to successfully integrate are reviewed.

Palabras clave: peces neotropicales, comunicación sónica, comunicación química, comunicación eléctrica.

Keywords: neotropical fish, sonic communication, chemical communication, electrical communication.

1. Introducción

El hombre desde su origen ha utilizado la naturaleza y sus productos o servicios, como un recurso para su subsistencia. Los seres humanos dedicados a la ciencia han demostrado su curiosidad por entender cómo se moldean la naturaleza y sus componentes, y cómo trabajan o se relacionan entre sí. Es posible que inicialmente, o incluso hoy día, nuestro interés sea utilitario. Sin embargo, en los últimos cientos de años ha habido una preocupación por una mejor gestión de los recursos (mayor y mejor uso) y por lo tanto, se ha determinado que algunas condiciones para su protección, conservación o uso sostenible deben establecerse, para una población que está aumentando continuamente y responde a más necesidades.

Como hombres de ciencias naturales dedicados a la ecología, tenemos la curiosidad constante de tratar de

identificar y entender cada uno de los ecosistemas que conforman lo que comúnmente se llama medio natural o silvestre. Primero, cada uno de sus componentes (diversidad) y segundo el papel que cada especie tiene en la comunidad que habita. Nos preguntamos ¿Cómo viven? ¿Qué recursos utilizan y cómo se comportan? ¿Qué los amenaza? ¿Cómo se comunican? entre muchas otras preguntas. Imaginen que nos enfrentamos a un “rompecabezas” muy complicado con cientos de piezas de diferente forma y con diferentes colores. Nuestro trabajo es buscar permanentemente donde cada pieza puede ser colocada en relación con las demás (por forma y color), por lo que haciendo eso, podemos tener sus posiciones exactas y reconstruir el marco o el mundo natural frente a nosotros.

Uno de esos aspectos es entender la comunicación y su significado. Esto es lo que nos motiva a estar entre colegas bien calificados de diferentes áreas del conocimiento para

1. Individuo de Número (Sillón III). Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales

2. College of the Environment Wesleyan University

discutir aquellas acciones que han permitido en la evolución establecer métodos complicados de comunicación o “lenguaje” y convencernos de que en el mundo natural hay organismos, más allá de nosotros, que también actúan para conocerse, transmitir información, formar grupos relacionados (comunidades), generar mecanismos de “alerta” y muchas otras funciones que necesitan para el establecimiento de un cierto tipo de relación, además con la posibilidad de que esta comunicación también interfiera con nuestras vidas.

Hemos tenido interés en la vida acuática y sus componentes, particularmente en la biología de los peces. Entre los aspectos indicados tenemos que preguntarnos y comprender ciertas características que estos grupos de organismos poseen, y haciendo esto responder ¿Qué les permiten integrarse con el ambiente y establecer relaciones con sus semejantes? Aún más complicado, en un medio como el fondo de los ríos y lagos donde hay oscuridad completa. No tenemos el espacio para entrar en detalle en cómo se ha logrado esto, pero en nuestros ríos estas comunidades de peces han logrado utilizar al menos tres mecanismos de comunicación para saber: ¿Dónde están (relación con el medio)? ¿Dónde está el alimento? ¿Dónde están mis seres relacionados o mi pareja? ¿Dónde están mis enemigos? entre otras cosas.

Los tres mecanismos que discutimos en este ensayo son:

- La comunicación a través del sonido que es igual o análoga al sonido de otros vertebrados y a la voz de los seres humanos;
- La comunicación a través del sabor mediante el ensayo o prueba química permanente de sustancias disueltas en el medio natural; y
- La comunicación eléctrica por medio de la producción y recepción de ondas eléctricas.

2. Comunicación sónica

El sonido es una parte integral tanto del medio terrestre como del medio acuático. Sin embargo, la diferencia de densidad en estos medios a través de los cuales viaja el sonido, afecta a su propagación. El sonido viaja más eficazmente en medios líquidos que en medios gaseosos [1]. En el agua, el sonido puede viajar hasta cinco veces más rápido de lo que lo haría en el aire, por lo que podríamos decir que es importante, y posiblemente más eficiente en un mundo acuático. Pero también, miles de diferentes sonidos de organismos vivos y de naturaleza física se producen en el mundo acuático a partir del efecto de corrientes, olas, vientos, entre otros. Por lo tanto, el uso potencial de sonidos específicos y la capacidad de discriminarlos, es efectivamente importante para la integración de los organismos a su medio natural [2].

Los peces, al igual que muchos otros grupos de animales, producen sonidos por una variedad de razones, incluyendo la orientación espacial [3], contextos de comportamiento como situaciones de socorro [4], interacciones agónicas, cortejo o para mantener la cohesión del grupo [5,6]. Representantes de varias docenas de familias de peces óseos de agua dulce poseen órganos generadores de sonido capaces de “vocalizar” señales acústicas [7, 8, 9].

En nuestros ríos y lagos los bagres son uno de los grupos más diversos en las aguas dulces. Sus hábitats son heterogéneos, pero en su mayoría asociados a ambientes oscuros, como raíces o escombros de árboles sumergidos, o tienen un comportamiento nocturno. Varias especies, producen sonidos en varios contextos de comportamiento; Parmentier *et al.*, [10] mencionan que los representantes de 18 de las 22 familias de bagres “sónicos” producen sonidos de estridulación como comportamiento agonista. Se denomina estridulación a la acción de producir sonido mediante la fricción de ciertas partes del cuerpo [11].

Numerosas especies emiten sonidos cuando son capturadas, empujadas o sujetas a mano fuera del agua [5, 11]. Además, los representantes de varias familias vocalizan tanto, durante el cortejo, como en los comportamientos agonísticos (para las revisiones, véase Amorim [7] y Ladich y Myrberg [6]). Sin embargo, el significado biológico de estos sonidos sigue sin estar claro. Las funciones potenciales podrían ser repeler a los depredadores, alertándoles de las espinas que podrían conducir a lesiones importantes, atraer a más depredadores con el fin de distraer al primer depredador de la presa (hipótesis de la atracción de depredadores), o para advertir a sus parientes o conspecíficos de un ataque [2, 5, 12, 13].

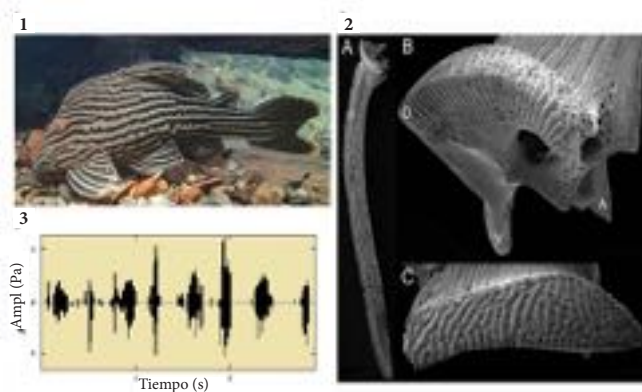


Figura 1. *Panaque nigrolineatus*. (Loricariidae); 2. Escaneo de micrografías electrónicas de la cintura pectoral izquierda de *Pterigoplichthys gibbiceps* (LT: 11,9 cm; peso: 12,5 g). A) Vista dorsal una espina completa. B) Base de la espina pectoral y sus procesos: ventral (V), anterior (A), y el proceso dorsal (D), mostrando crestas. C) Superficie dorsolateral del proceso dorsal de *Macrotocinclus affinis* (LT: 4,1 cm; peso: 0,68 g). 3. Oscilograma de sonidos estridulatorios en *P. gibbiceps*. Foto por Ivan Mikolji. Estructuras óseas y oscilograma tomadas de [15, 16].

Las estructuras implicadas en la producción de sonido son variables. La estridulación se produce raspando las espinas de las aletas contra el cuerpo como en los bagres “plecos” o “corrunchos” de la familia Loricariidae [14, 15, 16] (Figura 1). Estos sonidos se pueden producir cuando la aleta se mueve hacia el cuerpo (aducción) y se aleja del cuerpo (abducción). Las vibraciones producidas por las estructuras descritas anteriormente se transforman en sonido. En todos los casos estos sonidos se han descrito utilizando numerosos términos, incluyendo “clicks”, “chillidos”, “piar”, “croar” y “gruñir”.

Por otro lado, los bagres espinosos o “sierras” de la familia Doradidae, producen sonidos de estridulación (SR) utilizando sus aletas pectorales, y sonidos de “tambor” (DR) a través de un mecanismo donde participa la vejiga de gas o vejiga “natoria” en situaciones de socorro cuando se mantiene el pez fuera del agua. Se ha argumentado que los SR y DR están dirigidos a diferentes animales receptores o depredadores en diferentes medios [17] (Figuras 2 y 3).

Los análisis indican que los sonidos de alteración continua de la vejiga natatoria en los dorádidos son similares a los sonidos agonísticos, mientras que los sonidos pulsados son similares a los sonidos de cortejo de los machos; ambos tipos muestreados desde contextos sociales no perturbados para los mismos individuos que habían sido grabados en el campo. Por otro lado, Ladich [12] hipotetiza que dos tipos diferentes de señales acústicas en algunos dorádidos están dirigidos a diferentes receptores; los sonidos de baja frecuencia (sonidos de “tambor”) destinados a depredadores en el medio acuático, como otros peces y babas o caimanes, contrario a los sonidos de estridulación y de alta frecuencia que van dirigidos contra los depredadores aéreos, como las aves.

Se ha demostrado que algunas especies de peces se reconocen por sonidos pulsátiles [18]. Es probable que un examen de las especies del grupo doradoides en condiciones

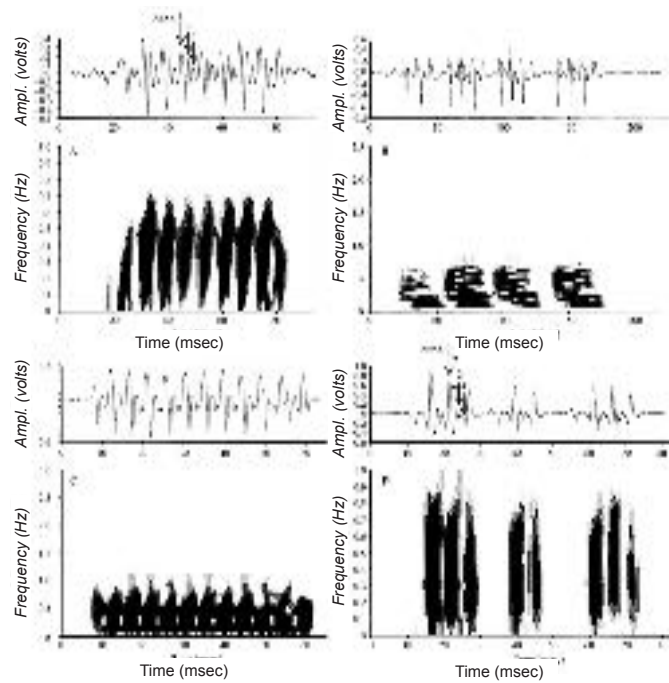


Figura 3. Oscilograma (imagen superior) y espectrogramas (imagen inferior) de sonidos de alteración de la vejiga de gas en bagres de la familia Doradidae: A. Dorádido, *Nemadoras leporhinus* con sonido continuo tipo “gruñido”. B. Dorádido *Megalodoras uranoscopus* con grupos de pulsos de intervalo fijo; C. Aucheniptérico *Trachelyichthys exilis* con sonido continuo tipo “gruñido”; y D. Aucheniptérico *Tatia aulopygia* con grupos de pulsos de intervalo fijo. Tomado de Kaatz y Stewart [21].

de campo podría revelar repertorio más ricos, con más tipos de llamadas o llamadas de mayor amplitud. Seguramente, tanto las estructuras involucradas (cámaras, musculatura y divertículos en la vejiga), como la condición fisiológica, pueden alterar los mecanismos “vocales” de estos peces, y así modificar su capacidad y tipo de comunicación acústica [19, 20, 21].

Muchos dorádidos y loricáridos también producen sonidos a través de la compresión de la vejiga de gas. Tienen músculos especiales (músculos sónicos) vinculados a la vejiga de gas

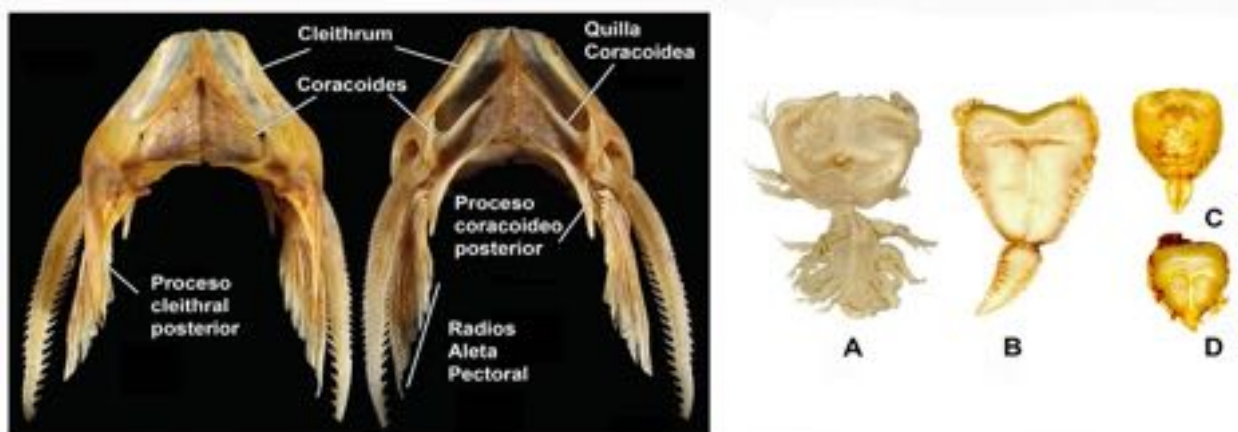


Figura 2. 1. Vistas dorsal y ventral de la cintura escapular de *Hassar orestis* (Doradidae). Tomadas de Birindelli *et al.*, 2011; 2. Vejigas de gas disectadas en algunos bagres de la familia Doradidae, mostrando cámaras y divertículos: A. *Megalodoras*; B. *Oxydoras*; C. *Pterodoras*; D. *Hassar*. Tomado de Kaatz y Stewart [21].

y soplan aire a través del intestino o esófago. Además, varias especies expulsan gas mediante la compresión del estómago e intestinos. En estos “sonidos” la abertura de la boca, la faringe y las branquias pueden actuar para cambiar las frecuencias y los tonos dependiendo del factor biológico o ambiental.

Los “caribes” o pirañas, “morocotos” y “cachamas” (Familia Serrasalmidae) son conocidos por ser animales productores de sonido. Sin embargo, el significado biológico de las llamadas de estos peces sigue sin estar claro porque los sonidos se han grabado sólo cuando los ejemplares fueron sostenidos a mano o atrapados en una red de enmalle. Estos sonidos son generados por contracciones rápidas de los músculos sónicos que se insertan en un tendón ancho que rodea ventralmente el saco craneal de la vejiga de gas. Se cree que la vejiga de los “caribes” o pirañas juega un papel importante en la producción de sonido como un dispositivo de coincidencia de impedancia y como resonador (**Figura 4**). Sin embargo, las capacidades vibratorias de los sacos craneales y caudales, y el papel exacto de ambos sacos en la producción sonora, siguen siendo poco comprendidas en estas especies depredadoras que atacan formando densos cardúmenes.

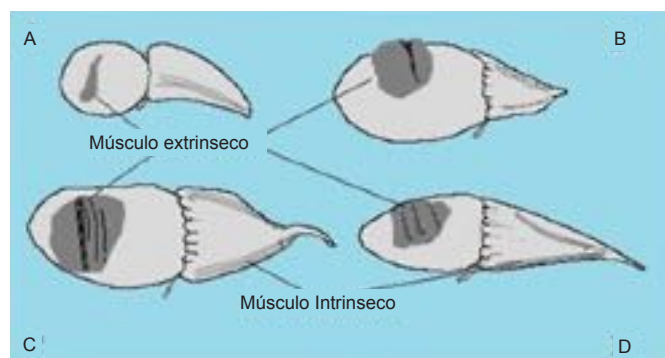


Figura 4. La vejiga de gas en peces de la familia Serrasalmidae mostrando los músculos sónicos: músculos extrínsecos sobre la cámara craneal o anterior, y los músculos intrínsecos en la cámara caudal o posterior. El conducto neumático comunica las cámaras con el esófago. A. *Pygopristis denticulatus*; B. *Pygocentrus cariba*. C. *Serrasalmus rhombeus*; D. *Pristobrycon striolatus*. Modificado de Machado-Allison, [22].

Una condición poco estudiada en las familias de bagres u otros grupos migratorios de agua dulce, como los proquilodóntidos y carácidos es el sonido producido a través de la compresión de gases por los órganos internos (vejiga de gas, estómago o intestinos). Se desconoce el porqué algunas especies emiten “llamadas” durante los viajes largos en el río o ribazones. Posiblemente, en estas especies existe el propósito de ir agrupando ejemplares en estos viajes masivos y mixtos hacia las aguas superiores como una analogía a las llamadas de las bandadas de Psitácidos o loros o de otras aves durante sus vuelos migratorios.

Tres tipos de sonidos fueron grabados en caribes en el laboratorio; la primera llamada fue un sonido armónico (tipo 1), que duró aproximadamente 140 ms, y las energías principales se encontraron en la frecuencia fundamental de aproximadamente 120 Hz. Este sonido fue producido en el 80 % de los casos durante la visualización frontal entre dos peces (reconocimiento). La segunda llamada fue un sonido (tipo 2) que duró 36 ± 8 ms y tuvo una frecuencia fundamental de aproximadamente 40 Hz. Este sonido fue producido en el 70 % de los casos durante el comportamiento natatorio en círculos y luchas, principalmente asociado con la competencia alimentaria. Los peces productores de este sonido suelen estar entre los más grandes del grupo. La tercera llamada fue un sonido (tipo 3) que se caracterizó por un solo pulso que duró 3 ms, con una frecuencia fundamental de aproximadamente 1740 Hz; este sonido se asoció en el 90 % de los casos con un comportamiento de persecución hacia un conspecífico [23].

La diversidad de señales sónicas de los peces abarca diferencias en las propiedades bioacústicas, que incluyen amplitud, frecuencia, características temporales y envolvente de la forma de onda [7]. El papel de la variación de llamadas en la especiación está respaldado por evidencias como la variación geográfica de las llamadas y la elección de la hembra, con base a pruebas de preferencia, como por ejemplo, en los cíclidos [18, 24]. Diferentes factores que pueden influir en las propiedades bioacústicas de los sonidos de los peces incluyen a circuitos de neuronas motoras de marcapasos, tasa de disparo muscular, fisiología muscular subcelular, temperatura, condición hormonal del señalizador y variación estacional en la condición de los músculos vocales [25, 26].

Los bagres (Orden Siluriformes), así como varias familias del orden Characiformes, entre ellos los “caribes”, “cachamas”, “palometas”, “morocotos” y representantes de las familia Characidae, como “tetras” y “neones”, y de la familia Bryconidae como las “palabras”, son un grupo de peces muy diverso, pero monofiléticos (evolución de línea única), que ofrecen una excelente oportunidad para probar hipótesis de diversidad y correlaciones morfológicas del diseño de las señales sonoras [27]. Los bagres, como los doradoideos neotropicales, que agrupan a las familias Doradidae y Auchenipteridae, así como, los “caribes y palometas” (Serrasalmidae) en particular, exhiben morfologías muy diversas y complejas de la vejiga de gas, músculos sónicos y tendones (**Figuras 2 y 4**) asociados con las estructuras óseas que forman el Aparato de Weber, la cintura escapular y el oído interno; es así que la vejiga de gas actúa no sólo un resonador para el sonido emisor, sino también para recibir y discriminar las vibraciones que proceden del medio acuático.

3. Comunicación química

La comunicación química es bien conocida entre los invertebrados y los vertebrados terrestres, donde las interacciones evidentes no sólo están influenciadas por las señales visuales, sino también a través de los sentidos olfativos. Como ejemplo tenemos las interacciones entre depredadores y presas, el hallazgo de alimentos y de parejas, el marcado de territorios, entre otros. Karlson y Lüscher [28] propusieron el término feromonas para estos agentes de comunicación química. El nombre se deriva del griego *pherein*, para transferir y *hormiön*, para excitar, definiéndolas como:

“sustancias que son secretadas al exterior por un individuo y recibidas por un segundo individuo de la misma especie, en las que liberan una reacción específica, por ejemplo, un comportamiento definido o un proceso de desarrollo” [28].

La mayoría de los sistemas de feromonas estudiados han sido en los insectos, pero en los sistemas acuáticos, las interacciones basadas en comunicaciones auditivas y olfativas son menos obvias. Las feromonas están relacionadas en diversos aspectos del comportamiento de los peces, incluyendo la alimentación, la formación de cardúmenes, la identificación y estructuración del territorio, y la búsqueda de pareja [29].

La mayoría de las feromonas investigadas actúan como “liberadores” y se han observado algunos efectos de “cebad”. Sin embargo, en la mayoría de las interacciones mediadas químicamente aceptadas, no está claro que la comunicación en un sentido generalmente admitido, esté involucrada, o si los peces simplemente están respondiendo de manera adaptativa a aquellos productos metabólicos que inevitablemente “se filtran” en el medio natural y sólo proporcionan fortuitamente “información” a los conspecíficos [30]. A pesar de esto, se ha sugerido que una combinación de factores, tales como la disponibilidad de una amplia gama de productos bioquímicos solubles, la naturaleza difusa de los sitios desde los que se podrían liberar dichos productos y la falta de una fuerte selección de mensajes químicos complejos, haya dado lugar a los sistemas relativamente simples “no ritualizados” de comunicación química que parecen ser característicos de los peces [30, 31].

Por ejemplo, la teoría general de la cadena alimentaria sólo considera los vínculos de alimentación directa entre el depredador y la presa, y descuida la posibilidad de que algunas presas puedan detectar y responder de forma conductual o morfológica a la presencia de un depredador. En los últimos años, sin embargo, existe un interés creciente en entender la importancia de las señales no visuales para la comunicación en los sistemas acuáticos. La mala transmisión de la luz en el agua, especialmente en aguas turbias o ríos profundos, y la

alta complejidad del hábitat, reducen el uso de la visión en los organismos acuáticos. Varios estudios han demostrado que los organismos acuáticos de muchos taxa diferentes responden a concentraciones pequeñas de sustancias químicas liberadas por otros organismos. Una de las respuestas mejor estudiadas en estas sustancias químicas es cuando un organismo-presa responde a sustancias químicas liberadas por un depredador [32] (**Figura 5**). Además, para evitar la depredación, las “sustancias de alarma” liberadas por la piel dañada promueven un comportamiento de “escape” y evitan el contacto con el depredador [33].

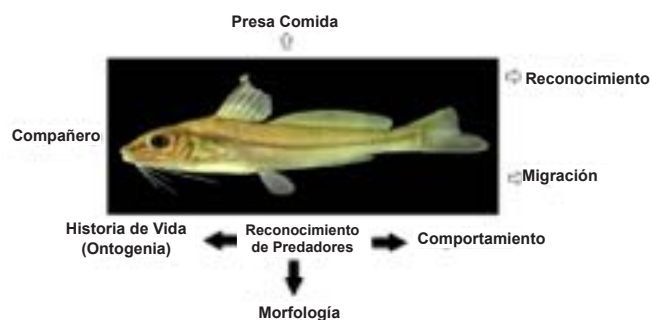


Figura 5. Actividades en las que los organismos acuáticos, por ejemplo, los bagres, pueden responder a la información contenida en sustancias químicas transmitidas por el agua.

Con respecto a los hallazgos alimentarios, se ha demostrado que varios organismos acuáticos, incluidos los peces, “saborean” el agua, para detectar metabolitos de bajo peso molecular, incluidos, por ejemplo, los aminoácidos, nucleótidos y ácidos orgánicos procedentes de presas heridas o muertas, y/o en descomposición.

En todas las relaciones de especies depredadoras y presas, existen procesos coevolutivos que requieren inversiones energéticas costosas, tales como historia de la vida o procesos ontogenéticos, estructuras morfológicas especiales o cambio de hábitat o de comportamiento para evitar sus encuentros de defensa si los hubiere. Por lo tanto, para minimizar los costos de las presas, es necesario un mecanismo para evaluar el riesgo de depredación. En muchos organismos presas en sistemas acuáticos, las señales químicas emitidas por un depredador pueden proporcionar un medio tan preciso para estimar el riesgo de depredación (véase la revisión de Kats y Dill, [34]). Sin embargo, en muchas especies de bagres, como los miembros de la familia Pimelodidae, las sustancias químicas tóxicas se combinan con estructuras complejas, como las aletas dorsal y pectorales, extremadamente afiladas o puntiagudas y lateralmente aserradas.

Los bagres en general, son especies asociadas al fondo (oscuro) en aguas tropicales claras o fangosas. Además, las

especies son habitualmente de actividad nocturna, con ojos reducidos o minúsculos. Así que, para integrarse al medio natural (viajar, comunicación, encontrar alimento, evitar la depredación) dependen casi completamente de otros sentidos diferentes a la visión. Anteriormente discutimos la producción y recepción de “sonido” como uno de esos sentidos. Acá discutiremos la capacidad de liberar y detectar sustancias químicas. Como ejemplo, tenemos que los miembros de las familias Auchenipteridae, Heptapteridae y Pimelodidae, presentan los paladares completamente tapizados por papilas gustativas (**Figura 6**). El cuerpo de la cabeza a la cola y las barbillas o “bigotes”, también están literalmente cubiertos con papilas gustativas. Estas les sirven para “saborear” el medio natural y de esta manera poder reconocer presas potenciales, como los peces eléctricos, que comparten los ambientes de fondo oscuro de nuestros ríos, y por otro lado establecer otro tipo de comunicaciones que les sirven para el reconocimiento, el apareamiento y la migración.

Por otro lado, se ha demostrado que las señales químicas están implicadas en la formación de cardúmenes, el marcado territorial, el reconocimiento de las especies, el sexo y el reconocimiento individual, el cortejo, la inducción de la preparación fisiológica para el apareamiento y en las interacciones entre padres y juveniles. Solomon [29] realizó observaciones sobre tales mecanismos en el comportamiento de los cardúmenes y el acondicionamiento beneficioso del agua, la búsqueda de peces migratorios, la comunicación de alarma, el “factor de hacinamiento”, que afecta negativamente al crecimiento, la supervivencia y la fecundidad en las poblaciones, la formación de parejas y el desove, y una serie de otras interacciones sociales. También, las feromonas pueden estar involucradas en el reconocimiento de los ríos “caseros” o “natales” en algunas especies anádromas y/o en

especies migratorias como los “salmones” y las “truchas” [29], las “anguilas” [35] y en los géneros de bagres gigantes neotropicales *Brachyplatystoma* y *Pseudoplatystoma* en las cuencas del Amazonas y el Orinoco [36,37].

Pasemos a discutir algunas propiedades particulares aplicadas a estas sustancias y el papel en la integración de los peces con el ambiente.

3.1 La sustancia de alarma o “Schreckstoff”

Todos los peces ostariofisinos, como tetras, bagres, peces eléctricos, caribes, entre otros, poseen una sustancia de alarma o “schreckstoff” [38], que se filtra al medio natural cuando la piel se rompe, alertando de la presencia de depredadores [39]. Esta sustancia es probablemente una de las señales de alarma química mejor estudiadas. Alrededor del 64 % de todas las especies de peces de agua dulce y el 27 % de todas las especies de peces en todo el mundo se encuentran en el superorden Ostariophysii, lo que destaca el uso generalizado y la importancia de este sistema de alarma química en los peces [40]. Varias hipótesis surgen sobre la evolución de esta sustancia entre todos los peces ostariofisinos. Entre estas se encuentran:

- a. **Hipótesis de selección parental o de relación** [41], que afirma que el remitente (productor) de la alarma química estaría dispuesto a incurrir en el costo de enviar esta señal, si los beneficios para individuos relacionados fueran lo suficientemente altos. En el marco de la selección de parientes, se seleccionan comportamientos que aparentemente son perjudiciales para el remitente porque beneficiarían a individuos que compartan su carga genética por tener éstos una relación filogenética cercana. De esta manera, la frecuencia de los alelos del remitente en la próxima generación se incrementaría por su presencia en parientes exitosos.
- b. **Hipótesis del atrayente de depredadores** [42] propone que el propósito principal del “schreckstoff” es atraer depredadores adicionales a la zona. Según esta hipótesis, los depredadores adicionales interactuarán con el depredador inicial, y estas interacciones proporcionarán al remitente una oportunidad de escapar.

No tenemos espacio en este ensayo para discutir profundamente ambas hipótesis. Pero tenemos que señalar que hay varias condiciones que deben cumplirse. En la primera hipótesis, para la liberación del “schreckstoff” por el remitente debe existir evidencia que les confiere a los receptores un beneficio. Además, hay que demostrar que los individuos en este orden Ostariophysii, se asocian principalmente con

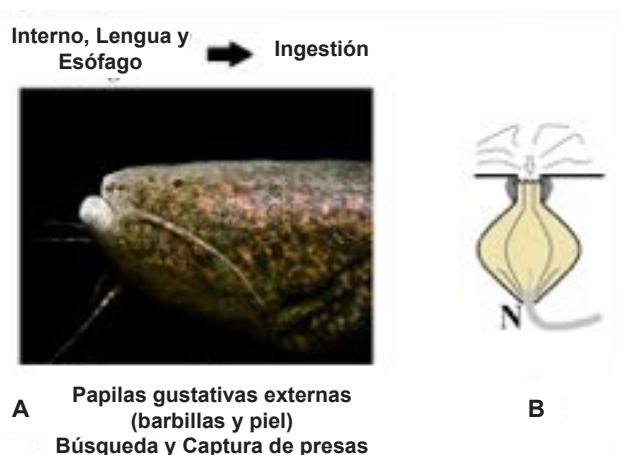


Figura 6. A. Algunas muestras de estructuras y órganos involucrados en la “comunicación química” o de “sabor” en bagres. Cabeza y barbillas cubiertas por papilas gustativas en el “toruno” (*Cephalosilurus apurensis*); y B. esquema de papila gustativa.

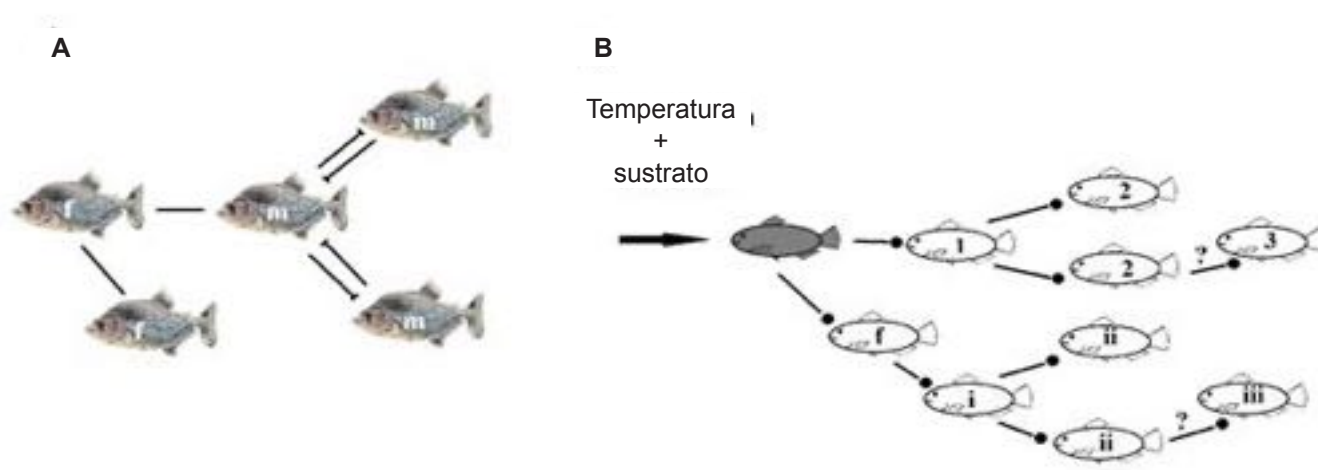


Figura 7. Modelo esquemático de la red feromonal (comunicación) sincronizando la preparación para el desove en los peces. (A) En presencia de hembras no ovulatorias (f), los machos maduros permanecen en estado endocrino basal (m) y liberan señales desconocidas que suprimen el almacenamiento de espermatozoides. (B) Si los estímulos exógenos inducen una oleada de LH ovulatoria en una hembra (sombreada), la liberación de feromonas preovulatorias puede aumentar los espermatozoides liberables tanto directamente (macho 1), aumentando la LH del macho, e indirectamente (macho 2), a través de señales desconocidas liberadas por los machos con aumento de LH. La feromona preovulatoria también puede inducir la ovulación en hembras adicionales (F), cuya liberación de feromona preovulatoria activará redes adicionales de machos directamente (i) e indirectamente (ii). Se desconoce si los machos (2 ii) que reciben información indirecta de que la ovulación es inminente, a su vez influyen en machos adicionales (3 y iii). Tomado de Stacey [46].

los miembros de su grupo solamente. Si se viola cualquiera de estas dos suposiciones, entonces la hipótesis de selección parental no sería compatible. Para la segunda hipótesis, el “*schreckstoff*” debe atraer depredadores. Los depredadores subsiguientes deben interrumpir el evento de depredación, aumentando así la probabilidad de que la presa escape; y, por último, el remitente debe ser capaz de recuperarse de los daños mecánicos incurridos durante el evento de depredación.

3.2. Feromonas sexuales, señales y reproducción

El modo ancestral de reproducción de los vertebrados, la fertilización externa, ha dado lugar a la fertilización interna en varias órdenes de peces óseos, como Characiformes, Siluriformes, Ophidiiformes, Beloniformes, Cyprinodontiformes, Scorpaeniformes y Perciformes [43]. A pesar del gran interés en las consecuencias de la historia de la vida [44] y las especializaciones fisiológicas asociadas con la viviparidad [43], la pregunta importante es ¿Cómo el cambio a la fertilización interna podría alterar la regulación hormonal y de producción de feromonas durante el comportamiento sexual? Esto aún carece de estudios. Sin embargo, se sabe que los peces comúnmente utilizan hormonas reproductivas (esteroides y prostaglandinas), tanto como señales endógenas entre el aparato reproductivo y el cerebro, y como señales exógenas (feromonas hormonales) que sincronizan la maduración del gameto y/o interacciones de desove dentro y entre conspecíficos. Esta doble función para los productos hormonales no sólo extiende los conceptos tradicionales de que las acciones de la hormona sexual y limitan a la sincronía reproductiva dentro del individuo, sino que también implica, que es poco probable que logremos una comprensión integral

de la función reproductiva en cualquier pez, sin el conocimiento de las acciones relacionadas (endógenas y exógenas) de sus hormonas y compuestos liberados [45, 46]. La Figura 7, muestra esquemáticamente el proceso de comunicación química a través de feromonas y las diferentes respuestas.

Aunque varios autores citados anteriormente indican diferentes tipos de interacción evolutiva entre los productores y receptores de feromonas, también plantean interrogantes importantes sobre cómo los sistemas feromonales-hormonales podrían coevolucionar con los sistemas endocrinos a partir de los cuales se derivan [39, 46].

Estas situaciones se refieren únicamente a las feromonas involucradas en la comunicación, donde la selección por parte de los receptores para modificar la función de las feromonas, tiene el potencial de afectar la función endocrina de los productores de feromonas. Temáticas como:

- a. *evolución de la feromona hormonal: restricciones y consecuencias endocrinas;*
- b. *feromonas hormonales y modos reproductivos;*
- c. *hormonas, feromonas y la evolución de la fertilización interna;*
- d. *feromonas hormonales y hermafroditismo; y*
- e. *feromonas hormonales y las estrategias masculinas alternativas,*

necesitan respuestas rigurosas y científicas para apoyar las hipótesis sobre el mantenimiento de la función endocrina preexistente, los donantes de feromonas hormonales que

responden a la selección, modificación de las liberaciones, cambios en los metabolitos hormonales, las regulaciones de cambios sexuales y el control hormonal, las tácticas reproductivas masculinas y las estrategias de fertilización externa o interna. Sin embargo, aunque el descubrimiento de feromonas hormonales en peces [47] evidentemente fue el logro de un enfoque hipotético-deductivo, mucho trabajo posterior ha sido el resultado del fenómeno de encontrar cosas valiosas no buscadas para su explicación (serendipidad), caso de los peces dorados, o por la búsqueda de feromonas en especies ya estudiadas por otras razones, como en el caso de bagres africanos y suramericanos migratorios, y salmón del Atlántico [46].

3.3 Especializaciones morfológicas

En varios casos, las especializaciones en las secreciones químicas o estructuras secretoras indican que han evolucionado para la comunicación, en grupos neotropicales de peces, como en las subfamilias Stevardinae y Glandulocaudinae dentro de los carácidos, y algunas familias de bagres de las familias Auchenipteridae y Pimelodidae con glándulas especiales que producen estas sustancias para el apareamiento y el gregarismo [29]. Estas glándulas se encuentran principalmente en la aleta caudal de los machos de los carácidos (Figura 8) [48], o cerca de las aletas pectorales y anales en los bagres [49,50 y observación personal].

Las glándulas especiales en las aletas, la piel y las secreciones de los testículos pueden actuar como estímulo o señales para propósitos particulares. La secreción encontrada en algunos auqueniptéridos puede tener funciones similares a las que presentan las sustancias producidas en las vesículas seminales

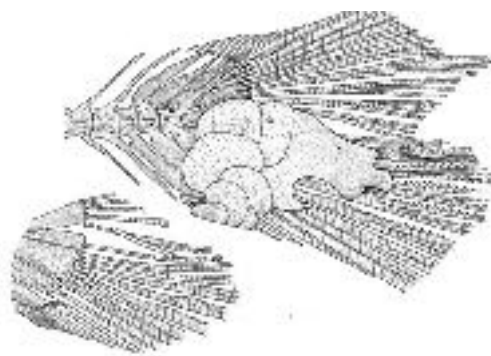


Figura 8. Estructura caudal y modificación de escamas para albergar la glándula productora de feromonas en machos de *Ptychocharax rhyacophila* (Glandulocaudinae). Tomado de Weitzman *et al.* [51].

de otros peces óseos, que contienen glicoproteínas, hormonas esteroideas y feromonas que pueden aumentar el volumen del fluido seminal y pueden participar en la atracción de la hembra y en el proceso de fertilización [50, 52, 53].

En algunas especies de bagres (*Acanthicus*, *Ageneiosus*, *Auchenipterichthys*, *Hoplosternum*, *Hypostomus* y *Trachelyopterus*) y en los carácidos en los ríos suramericanos, las secreciones de feromonas podrían combinarse con el desarrollo de estímulos táctiles a través de modificaciones en la piel o en las aletas de los machos [54, 55, 56, 57]. Los tubérculos nupciales pueden agruparse en tres categorías generales sobre la base de su estructura: (1) Los tubérculos que consisten en agregaciones de células epidérmicas no queratinizadas; en caso de queratinización, se limita a las capas más superficiales de las células y puede formar una cutícula ligera. (2) Los tubos que contienen un número sustancial de células totalmente queratinizadas que están organizadas para formar una capa

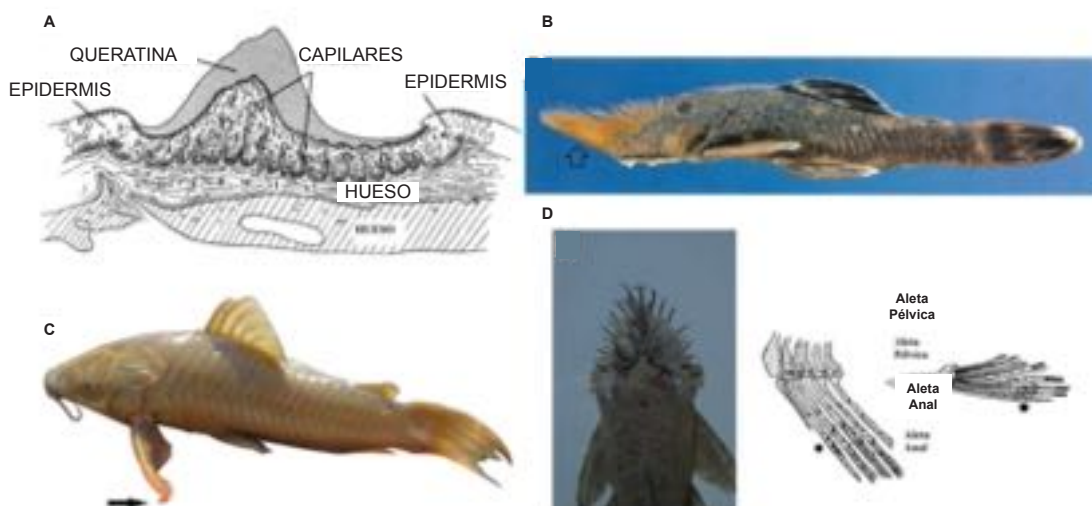


Figure 9. Tubérculos reproductivos. A. Dibujo diagramático de una sección de un tubérculo queratinizado en la piel; B-E. Estructuras reproductiva dérmicas (blandas o óseas) (odontodes hipertrofiados, tentáculos, ganchos y espinas) en Siluriformes y peces Characiformes neotropicales. Modificado de Wiley y Collette [58], Machado-Allison y Zaret [60], Chernoff *et al.* [61], Rodríguez *et al.* [62], Román-Valencia *et al.* [63] y Chamon [64] (2016).

discreta, generalmente cónica, un componente importante del tubérculo. 3) Los órganos de contacto compuestos de crecimientos dérmicos u óseos blandos, como los odontodes hipertrofiados, o las espículas que se proyectan desde el margen de radio de aleta o escama, y están rodeados por la epidermis, a través de la cual pueden sobresalir los brotes óseos [58] (**Figura 9**). Muchos de ellos desaparecen después de la temporada de cría [59].

3.4 ¿Cómo podría evolucionar la especificidad en las especies? Una discusión necesaria

La especificidad en las especies probablemente surge a través de dos escenarios diferentes. En primer lugar, la especificidad es pasiva, ya sea a través de la divergencia de especies hermanas alopátricas o por feromonas hormonales distintas independientes. Por ejemplo, en algunos estudios en especies simpátricas del lago Victoria: a) en el caso de bagre de la familia Mochokidae, Narayanan y Stacey, [65] determinaron que había evidencia para detectar sólo esteroides no conjugados, mientras que b), en el estudio de un ciclido [66], demostraron que sólo detectan esteroides conjugados, por lo que las respuestas olfativas específicas de la especie a los esteroides podrían considerarse pasivas porque sin duda, surgieron de forma independiente. En segundo y más interesante, la especificidad podría surgir a través de procesos activos que se producen en especies simpátricas utilizando los mismos olores o similares, experimentando respuestas equivocadas que crean presión de selección para una mayor discriminación conspecífica.

Por otro lado, Stacey [67] indica que la mayoría de las feromonas hormonales no se ajustan al concepto tradicional de que las feromonas son señales químicas especializadas, porque su síntesis y liberación parecen ser simplemente consecuencia inevitable de la reproducción, actividad endocrina, en lugar de una actividad especializada para mejorar la comunicación con los conspecíficos. Tal uso de feromonas no especializadas, que ha sido llamado “espionaje químico” para distinguirlo de la “comunicación química”, se ha propuesto que sea una condición primitiva en la evolución de la feromona hormonal, la cual se originó cuando los receptores evolucionaron hacia la capacidad de detectar y responder de manera adaptativa para beneficiarse de hormonas conspecíficas y metabolitos hormonales que en esta etapa evolutiva se denominarían excitantes feromonales (**Figura 10**) [68, 69, 70]. La etapa primitiva de espionaje podría progresar hacia la comunicación química, si la respuesta de los receptores puede ejercer una presión selectiva para la especialización en la producción y/o liberación del olor hormonal, que ahora sería llamada señal feromónica, liberada por un individuo señalizador. Sin embargo, si bien esta definición de feromona es coherente

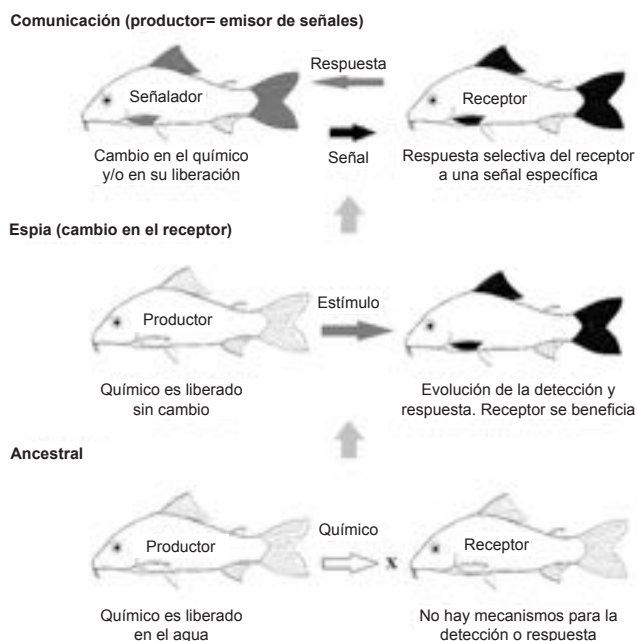


Figura 10. Etapas propuestas en la evolución de la comunicación feromonal. Modificado de Stacey [67].

con la sugerida por Sorensen [71], pero no es coherente con todas las definiciones. Por lo tanto, la semántica puede ser importante (**Cuadro 1**).

4. Comunicación eléctrica

La señal eléctrica o electrocomunicación es un método de comunicación utilizado por diferentes vertebrados, como los peces eléctricos del orden Gymnotiformes. Los peces débilmente eléctricos son un grupo de animales que utilizan un canal de comunicación que no es detectable para la mayoría de los otros animales.

Se identifican dos órganos diferentes en peces (**Cuadro 2**): la ámpula (**Figura 11**) y el tuberoso (**Figura 12**). El primero se sugiere principalmente para la electrolocalización, y el segundo para la electrocomunicación [72].

Cuadro 1. Algunas definiciones y funciones aplicadas a las sustancias químicas liberadas por los organismos. Tomado de Stacey [67].

<i>Excitación</i>	Refiere a cualquier estímulo que suscita una respuesta en el sistema sensorial de un animal.
<i>Señal</i>	Conjunto prescrito de excitaciones cuya identidad química ha sido influenciada por los procesos evolutivos y, por lo tanto, puede considerarse especializada.
<i>Comunicación</i>	Intercambio de información adaptativa (es decir, señales) entre dos individuos de la misma especie.

Cuadro 2. Órganos involucrados en la electrorecepción y la electrolocalización en peces. Modificado de Zakon [72].

<i>Ampular</i>	Ampolla abierta lleno de mucosas	<i>Electrolocalización</i> (Navegación y localización de especie)	0,01 $\mu\text{V}/\text{cm}$ en especies marinas, 0,01 mV/cm en especies de agua dulce. Sensitivo a campos DC/ bajas frecuencias menores de 50 Hz	Peces cartilagosos (tiburones y rayas); algunos teleósteos (Mormyridos, <i>Notopterus</i> , Gymnotiformes, bagres); Anfibios (excepto los anuros)
<i>Tuberoso</i>	Ampolla cubierta por piel, débilmente empacado con células epiteliales	<i>Electrocomunicación</i>	(0,1 - 10) mV/cm Decenas de Hz a más de 1 kHz.	Mormyridos y “peces eléctricos” (Gymnotiformes)

Se sabe que los tejidos especializados para la electrorecepción sólo están presentes en cerca de 5.400 especies de vertebrados (**Cuadro 3**). Aproximadamente 2/3 de las especies electroreceptivas son “bagres” (orden Siluriformes) y “peces eléctricos” o “cuchillos” (orden Gymnotiformes). Las células sensoriales electroreceptivas son células pilosas en los vertebrados, pero con microvilli en los peces teleósteos formando parte del sistema sensorial lateral. En los peces, esto conforman sistemas sensoriales mecanoreceptores (línea lateral) para la audición, el mantenimiento del equilibrio, la detección de gravedad y rotación, y de las corrientes de agua a lo largo del cuerpo. Las células sensoriales electroreceptivas son similares a las células sensoriales mecano receptoras de los vertebrados [73].

Los animales con **electrorecepción pasiva** orientan y localizan a sus presas mediante la detección de campos eléctricos externos que emanan de fuentes inanimadas o de tejidos vivos, incluidos los animales con o sin órganos electrogénicos especializados. La electrorecepción pasiva difiere de la electrorecepción activa en que un animal no tiene que generar su propio campo eléctrico para detectar estos objetos. El término electrorecepción pasiva se limita a: 1) la detección de señales eléctricas de baja frecuencia, generalmente débiles, que emanan de fuentes inanimadas o de tejidos vivos que utilizan órganos electroreceptores ampulares; y (2) la detección de campos de baja frecuencia que emanan de peces electrogénicos por peces no electrogénicos utilizando electroreceptores ampulares. El **Cuadro 3** muestra los grupos de organismos que tienen este tipo de sistema de electrorecepción. Por otro lado, la **electrorecepción activa** es la detección de distorsiones de un campo eléctrico autogenerado en animales electrogénicos (véase la **Figura 10**) por una serie de órganos eléctricos especializados sensibles a la alta frecuencia y de forma tuberosa. También incluimos dentro de esta definición casos de peces electrogénicos que detectan otros

peces electrogénicos, ya sea de la misma especie (conspecífico) u otras especies, utilizando electroreceptores tuberosos, aunque la detección puede no implicar la distorsión de su propio campo en el sentido clásico de la electrolocalización activa. En Gymnotiformes, la gama de electrolocalizaciones es menor que la diversidad de electrocomunicaciones [73, 74].

4.1 Sistema electrogénico

Las descargas de algunos peces eléctricos son fuertes (10 a 600 voltios, como en el temblador o “anguila eléctrica” *Electrophorus electricus*) y fácilmente detectables por los seres humanos por el tacto. Sin embargo, las descargas de la mayoría de los peces eléctricos son débiles (milivoltios). El grupo más diverso está incluido en el orden Mormyridos con alrededor de 235 especies. Este grupo está distribuido en las aguas

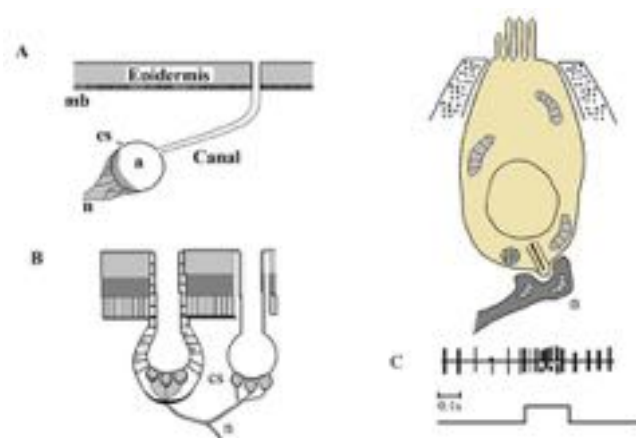


Figura 11. El órgano del electroreceptor ampular (a) consiste en una capa de células sensorial (receptoras (cs) que recubren una ampolla que está conectada al exterior por un canal, que es largo en peces marinos (A) y corto en peces de agua dulce (B). El órgano está forrado por la membrana basal (mb); por lo tanto, representa una estructura totalmente epidérmica que se inserta en el corion subyacente. Las células sensoriales son contactadas por un solo tipo de fibra nerviosa aferente (n) tanto en los peces óseos, como en los cartilagosos. C. Detalle de una célula electroreceptora ampular en peces que presentan sólo microvilli. Las fibras aumentan su tasa de disparo cuando reciben un estímulo eléctrico. Modificado de Kramer [73].

Cuadro 3. Distribución de vertebrados electroreceptivos. Tomado de Albert y Crampton [74].

Grupo	Nombres comunes	N.º de Especies	Electrorecepción	Órgano electroreceptor
Petromyzontiformes	lampreas	38	pasiva	protuberancia terminal
Elasmobranchii	tiburones y rayas	1.000	pasiva	ampular
Chimaeriformes	quimeras	43	pasiva	ampular
Coelacanthiformes	coelacanto	2	pasiva	ampular
Dipnoi	peces pulmonados	9	pasiva	ampular
Lisamphibia	anfibios	290	pasiva	ampular
Monotremata	monotremas	3	pasiva	glándula mucosa
Polypteriformes	bichires	15	pasiva	ampular
Chondrostea	esturiones	28	pasiva	ampular
Xenomystinae	cuchillos (Afr)	2	pasiva	ampular
Mormyriiformes	mormyridos (Afr)	235	pasiva, activa	ampular + tuberoso
Siluriformes	bagres	3.570	pasiva	ampular
Gymnotiformes	cuchillos (Am)	173	pasiva, activa	ampular + tuberoso

Am: América

Afr: África

continentales africanas e incluye las numerosas especies de la familia Mormyridae y también al monotípico *Gymnarchus niloticus* (Gymnarchidae) de las regiones septentrionales del África Tropical (Senegal a Etiopía). En aguas continentales neotropicales existen 173 especies de Gymnotiformes y alrededor de 50 especies de los cosmopolitas rayas eléctricas marinas o torpedos (Torpediniformes) que incluye a las familias Hypnidae, Narcinidae, Narkidae y Torpedinidae.

En la comunicación eléctrica un pez genera un campo eléctrico y un segundo individuo recibe ese campo eléctrico a través de sus electroreceptores. El lado receptor interpretará las frecuencias de señal, las formas de onda y el retardo, entre otras. Las especies mejor estudiadas son dos linajes de agua dulce: los Mormyridae africanos y los Gymnotiformes suramericanos, donde está incluida la anguila eléctrica o temblador.

Los peces eléctricos son el único grupo que ha sido identificado para llevar a cabo tanto la generación como la recepción de campos eléctricos; otras especies, como rayas, torpedos, tiburones y bagres, pueden generar señales o recibirlas, pero no ambas simultáneamente. Los animales que generan o reciben campos eléctricos se encuentran sólo en ambientes acuáticos, o al menos húmedos, debido a la gran resistencia de todos los demás medios, como el aire. Hasta ahora, la comunicación entre peces eléctricos se

ha identificado principalmente para servir al propósito de transmitir información sobre el reconocimiento de especies, el cortejo y el reconocimiento sexual, la captura de presas, el estado motivacional (advertencia o sumisión de ataques) y la electrolocalización [75].

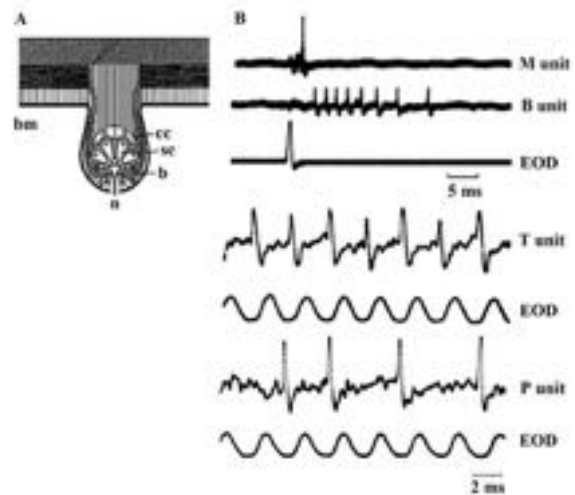


Figura 12. A. Electroreceptor tuberoso en peces Gymnotiformes; B. Respuestas de electroreceptores tuberosos a descargas de órganos eléctricos (EOD) en Gymnotiformes. a) Respuestas nerviosas aferentes en una especie con un pulso EOD; b) en una especie con una onda EOD. Tener en cuenta que hay dos tipos de receptores en ambos fenotipos electrogénicos (especies con onda o pulso EOD), uno que marca el momento de aparición de una unidad EOD (unidad M y T), mientras que el otro es sensible a los cambios de intensidad. Tomados de Kramer (1996).

Tomemos como ejemplo los peces eléctricos o cuchillos del orden Gymnotiformes. Estos peces generan descarga desde órganos eléctricos situados cerca de la región de la cola. Los órganos eléctricos se derivan principalmente de células musculares (miogénicos), a excepción de las especies de la familia Apternotidae que tiene un órgano eléctrico derivado de neuronas (neurogénicos) [76]. En los Gymnotiformes se identifican dos descargas diferentes: el tipo “pulso” y el tipo “onda” (Figuras 13 y 14). Para detectar las señales eléctricas, los peces eléctricos tienen dos tipos de células electroreceptoras, las **ampulares** y las **tuberosas** como ya se mencionó anteriormente.

4.2 Origen y diversificación de la capacidad electrogénica

La distribución filogenética de la electrorecepción entre los vertebrados vivos indica una compleja historia evolutiva con al menos diez acontecimientos importantes (Figura 15): (1) Un origen a partir del sistema de la línea lateral en el ancestro común de los vertebrados (lampreas + vertebrados mandibulados o Gnathostomos), y (2) origen a partir de las Ampollas de Lorenzini; pérdidas evolutivas en los ancestros (3) extintos de los vertebrados amniotas como (4) algunos urodelos (salamandras), (5) anuros (ranas) y (6) peces neopterigios (incluidos los teleosteos); la adquisición independiente en un

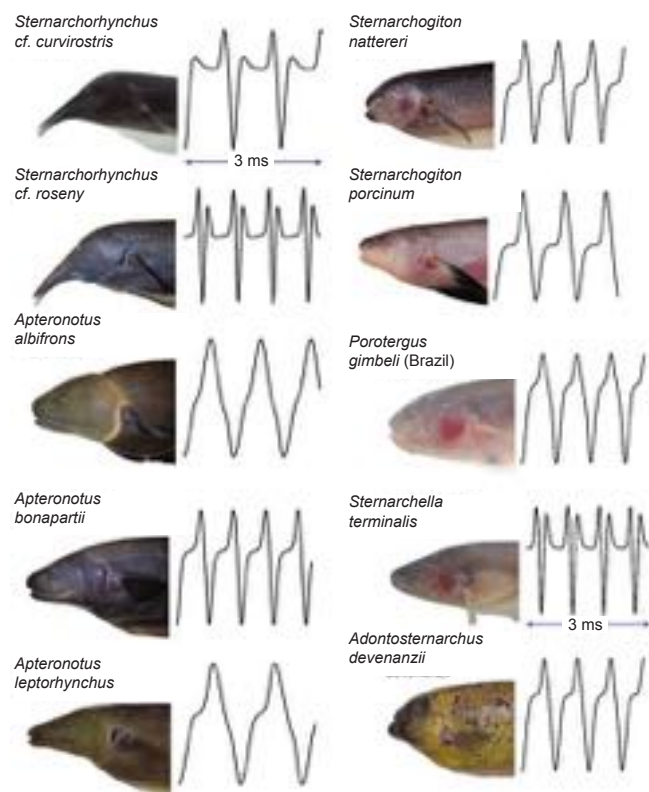


Figura 13. Variación de las señales eléctricas de tipo onda en especies de la familia Apternotidae. Tomado y modificado de Turner *et al.* [77].

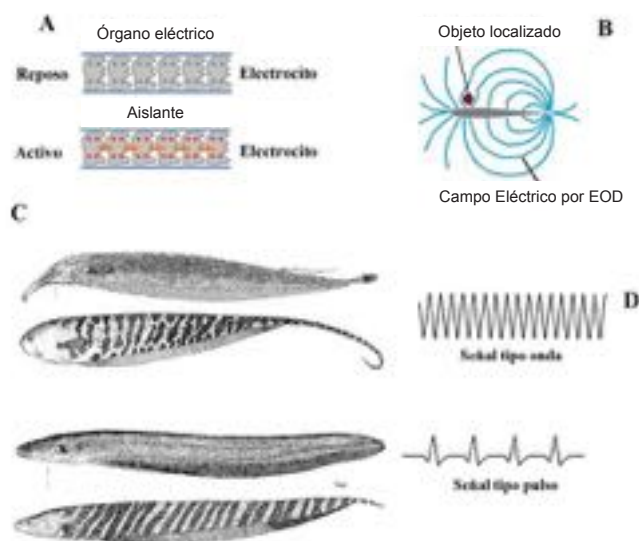


Figura 14. Peces eléctricos. Estructuras y tipos de señales eléctricas. A. Diagrama de un órgano eléctrico; B. Campo eléctrico y detección de objetos o presas; C. Especies; y D. Tipo de señal eléctrica (onda y pulso). Modificado en parte de http://people.virginia.edu/~mk3u/mk_lab/electric_fish_E.htm

grupo rayas (7), en mamíferos monotremas (8) y al menos tres grupos de teleosteos de agua dulce como: (9) Xenomystinae, y Mormyriiformes, y (10) los Siluriphysi (Siluriformes + Gymnotiformes). Debido a que el 42 % de las especies de vertebrados vivos son amniotas y el 46 % de estos son teleosteos, una gran mayoría de los vertebrados no posee un sistema electroreceptivo [74].

Además de la discusión anterior sobre la capacidad de la electrorecepción dentro de los vertebrados, la capacidad de producir descargas eléctricas coordinadas regulares, ha evolucionado de forma independiente en al menos 6 linajes de vertebrados, todos ellos peces (Figura 16). Tres de los grupos son peces de agua dulce de África y cuatro son grupos Neotropicales (América del Sur). En todos los grupos hay generadores de señales de tipo pulso u onda, que oscilan entre los 10 a 600 voltios.

La distribución conocida de electrorecepción y electrogénesis se limita a vertebrados y gnatostomos (vertebrados con mandíbula) respectivamente, dentro de los cuales ha habido múltiples orígenes evolutivos y pérdidas de estos sistemas. Aunque faltan estudios sistemáticos para la electrorecepción entre taxa no vertebrados, esta modalidad sensorial no se ha encontrado en estudios específicos de varias especies de artrópodos y cefalópodos [74].

Sobre la base de la evidencia con respecto a la formación, la apariencia citológica, la ubicación anatómica, así como las primeras grabaciones eléctricas, se ha sugerido que durante la evolución, las especies tipo pulso de Gymnotiformes evolucionaron primero que las especies de tipo onda [74]. Este

punto de vista, sin embargo, sólo es corroborado por algunas hipótesis filogenéticas [76].

5. Discusión general y conclusiones

“Pocos han supuesto que las especies vivas distintas del *Homo sapiens* poseen métodos de comunicación que arrojan mucha luz sobre las interrogantes que surgen del estudio del lenguaje humano y la lingüística. No obstante, los métodos de comunicación utilizados por los animales han recibido atención de los interesados en describir y contabilizar el propio comportamiento de los animales. El que a menudo quedan analogías implícitas con el intercambio humano de información se indica por las dificultades para definir qué tipos de comportamiento animal deben considerarse comunicativos y cuáles no” [78].

Hay un amplio entendimiento de lo que realmente significa la comunicación y no es difícil seleccionar ejemplos de comportamientos que obviamente califican como algún tipo de comunicación, como los gritos de advertencia, o la liberación de atractores o seductores químicos. Sin embargo, hay escaso acuerdo sobre una definición formal que abarque muchos casos diferentes y menos obvios. El más amplio incluye cualquier método por el cual un animal (o célula) influya demostrablemente en el comportamiento de otro [79].

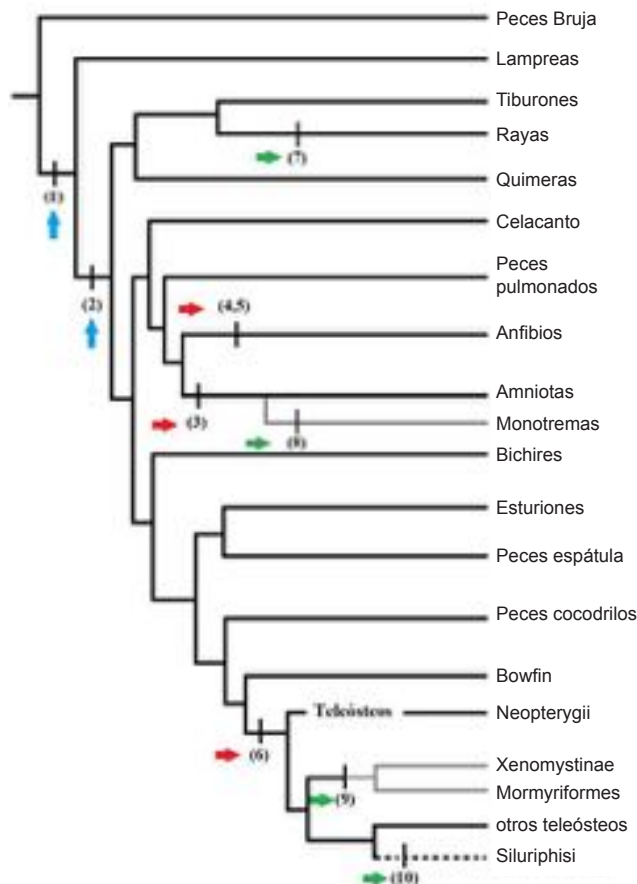


Figura 15. Esquema de filogenia de los vertebrados mostrando los 10 eventos evolutivos (ver texto). Modificado de Albert y Crampton [74].

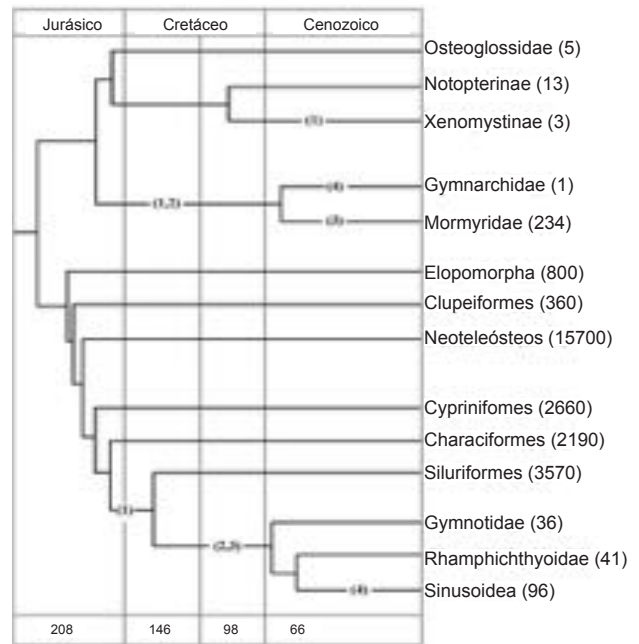


Figura 16. Filogenia de los peces teleosteos mostrando la evolución repetida de los sistemas de electrorecepción y electrogeneración. (1) Electrorecepción pasiva de baja frecuencia (50 Hz) sensitiva a órganos ampulares, con presencia de pelos y microvellosidades apicales y estimulación anodal. (2) Electrorecepción activa de alta frecuencia (50 Hz a 2 kHz) sensitiva a órganos tuberosos. (3) EOD tipo pulso. (4) EOD tipo onda. Albert y Crampton [74].

Tomando un ejemplo de las redes tróficas, podríamos asegurar que el mundo natural es sostenido por un animal comiendo otro; un acto de este tipo sin duda altera el comportamiento de ambos, pero ciertamente no es principalmente comunicativo. Por lo tanto, podemos concluir que la depredación puede excluirse fácilmente. Sin embargo, como presentamos en nuestros resultados, podríamos sugerir que la sustancia de alarma o “*schreckstoff*” posiblemente juega un papel importante en la hipótesis de atracción de depredadores, en la que esta se utiliza para atraer depredadores adicionales a la zona. Según esta hipótesis, depredadores adicionales interactuarán con el depredador inicial, y estas interacciones proporcionarán al remitente o presa, la oportunidad de escapar, así como evitar que más presas vengan a la zona. Otro enfoque puede ser conveniente sólo para considerar las interacciones entre los miembros de la misma especie y como esta definición estrecha centraría la atención en los comportamientos que es razonable suponer que han sido seleccionados debido a los beneficios el productor y el receptor de los mensajes transitorios transmitidos, así como señalamos en nuestro ejemplo de la evolución de la comunicación feromonal en los peces [67].

5.1 Funciones de la comunicación animal

“El principio explicativo exagerado para el comportamiento animal es el de la teoría de la evolución, más a menudo expresado no sólo en términos de la ventaja del individuo, sino en referencia a los genes del individuo. Los comportamientos bajo control genético persisten sólo si optimizan la transmisión

de los genes del individuo a la siguiente generación” [78].

Como ha sido propuesto por las teorías evolutivas generales del comportamiento social, se sugieren dos tipos de calificación; el primero es la **selección de parientes**. En términos genéticos, el egoísmo puede abarcar el cuidado de los padres, y de hecho formas más extremas de auto sacrificio a cambio de la supervivencia de un número suficiente de parientes cercanos. Las observaciones de las interacciones entre padres y juveniles (prole), forman parte sustancial de la disciplina de la etología, que es el enfoque del estudio del comportamiento animal que ha proporcionado parte del marco conceptual para el análisis de la comunicación. La segunda calificación es el **altruismo recíproco** en el que el individuo más egoísta debe cooperar con los demás si se incrementan sus propios beneficios como resultado, lo que puede suceder si se devuelven favores, o si las actividades colectivas benefician más a todos los cooperantes que a los tramposos o individualistas [78, 79].

La relevancia directa de estos corolarios de la teoría evolutiva para el análisis de la comunicación animal, es que ambos requieren algún tipo de reconocimiento individual y grupal. Para que el cuidado de los padres se justifique por la selección de parientes, debe dirigirse a la descendencia correcta; en especies relativamente solitarias es una restricción menor, pero una importante en las que se reproducen en colonias o cardúmenes.

Cuando el comportamiento grupal es cooperativo, el reconocimiento de determinados conspecíficos individuales está implícito en las normas del altruismo recíproco, mientras que cuando los grupos se forman como agregaciones menos complejas, presuntamente por motivos de seguridad en números, debe haber al menos una sensibilidad hacia con quién uno se agrega. En los peces y especialmente en aquellas zonas de amplios canales fluviales y entornos cambiantes, es muy difícil decidir cuáles de esas teorías se aplican debido a: 1) la mayoría del desarrollo de los peces incluye cambios ontogenéticos en los comportamientos o ser altamente territoriales en todos los tiempos, y/o; 2) cambios por restricciones ambientales (temporada seca o húmeda), y provisión o restricción de alimentos. Por lo tanto, la señalización, las pistas o la comunicación son muy difíciles de discriminar adecuadamente entre esas teorías [40, 80].

5.2 Reconocimiento

Una primera función para la comunicación es el reconocimiento de especies; las interacciones sociales más detalladas para una variedad de propósitos deben ser con los conspecíficos. El reconocimiento de especies puede estar en muchos casos incorporado en sistemas sensoriales, como el sonido, el sabor o la comunicación eléctrica. El reconocimiento

adquirido es más evidente cuando la pertenencia a grupos locales es un factor en los detalles de la comunicación, como mostramos en las divergencias de señales eléctricas en los peces cuchillos apteronótidos [77] (**Figura 13**) que tienen hábitos nocturnos y habitan en lugares con poca luz en el fondo de los ríos o lagos. Estos podrían ser análogos a los dialectos locales de la vocalización o cantos de las aves y anfibios. También, podrían ser restricciones ecológicas tales como: a) la evolución filogenética de las sustancias de alarma químicas en los ostariofisinios; b) la alarma o sonido estridulante que producen los peces doradiodeos y calíctidos cuando son capturados por aves y reptiles, o son sacados del agua, donde ambos grupos se consideran principalmente presas; y/o, c) reconocimiento feromonal por comportamiento nupcial en especies migratorias y territoriales, esparcidas en el agua durante el comienzo de la temporada de lluvias, como los proquilodóntidos, algunos serrasálmidos y los grandes bagres pimelódidos [59, 67, 81, 82]. Generalmente, se supone que los comportamientos comunicativos de los animales están genéticamente determinados y son comunes a todos los miembros de la misma especie. El caso en los vertebrados más evolucionados, donde hay aprendizaje (impresión adquirida), es más difícil de demostrar experimentalmente en los peces.

5.3 Cortejo y selección de pareja

Incluso, las especies más solitarias deben participar en las interacciones sociales necesarias para la reproducción sexual, ya que la partenogénesis es extremadamente rara, pero ocurre en algunos grupos de peces. Los teóricos evolutivos han deducido que la elección de pareja es probable que se produzca a través de efectos de selección sexual no predecibles (cantos, olores, sonidos, órganos de contacto, cortejo, etc) de las necesidades más rutinarias de la supervivencia diaria [78, 79]. Por lo tanto, en acuerdo con los sentidos y dispositivos de comunicación discutidos anteriormente, el desarrollo de órganos de contacto se integra con la propagación físico-química de las feromonas a través de glándulas u orina, y las señales electrogénicas deben propagarse a distancia y en áreas más oscuras, para acercarse a la pareja. Esto tiene mucho sentido cuando varias especies relacionadas coexisten en la misma zona, como observamos en el desarrollo del tipo específico de señales “tipo onda” mostrada en las especies de la familia Apterontidae [77]. Además, el desarrollo de estructuras sexuales secundarias que muestran algunos bagres con la aparición de los odontodes sobre las placas del cuerpo y las aletas pectorales, los flecos o tentáculos sobre el hocico, o el gancho terminal como proyección al final de las aletas pectorales (**Figura 9**) y dorsales (Auchenipteridae), son algunos de los dispositivos mostrados para la comunicación potencial durante el cortejo y la atracción de parejas en estos grupos de peces.

5.4 Agresión y amenaza

En los bagres de las familias Callichthyidae, Loricariidae, Doradidae y Auchenipteridae hay competencia entre los machos por el acceso a las hembras, junto con el “llamado” de los machos, como el sonido que producen a partir de la estridulación de aletas contra el cuerpo y/o el desarrollo de órganos de contacto. Estas señales tienen muchos efectos visuales, pero también como órganos de contacto pueden ser utilizados para la agresión, la defensa del territorio y la atracción de las hembras. En algunos miembros de la familia Auchenipteridae también sirve para asir a la hembra y así lograr la fertilización interna. En peces como *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae) los ruidos y el fuerte gancho que se forma en el extremo terminal de la aleta pectoral se pueden utilizar agresivamente para defender el nido flotante y posiblemente como un dispositivo engañoso para atraer a más hembras hacia éste, y así lograr un mayor número de huevos en su interior [59, 60, 83]. Algunos loricáridos como *Acanthicus*, *Ancistrus*, *Hypostomus*, *Liposarcus* y *Pterigoplichthys*, que hacen agujeros en las orillas del río, o bajo rocas y raíces de árboles sumergidas para anidar, también defienden el sitio por el ruido y las fuertes aletas pectorales y dorsales cubiertos por odontodes. Los machos persiguen a las hembras lejos del sitio de anidación hasta que en ellos se logre el desarrollo completo de estos caracteres sexuales secundarios [54, 55, 56, 57, 84].

Como señalamos, la “agrupación” o construcción del cardumen requiere que los animales se influyan unos a otros, pero este tipo de coordinación puede ocurrir sin la emisión de señales especializadas, siempre y cuando los individuos sean sensibles a los movimientos de los demás. Por lo tanto, la facilitación social a veces se distingue de la coordinación a través de mecanismos comunicativos conocidos. Sin embargo, en la mayoría de las especies sociales, especialmente de aves y mamíferos, se observan muchos más comportamientos comunicativos de los que se pueden contabilizar en términos de las funciones específicas de selección de parejas, llamadas de alarma, entre otros [78]. En especies altamente sociales de peces, incluyendo los proquilodóntidos (*Prochilodus* y *Semaprochilodus*), y algunos serrasálmidos (*Colossoma*, *Piaractus* y *Mylossoma*), que se mezclan para producir densos cardúmenes o “ribazones” migratorias, que se mueven a kilómetros de distancia, donde se producen ruidos fuertes [59, 85], o llamamientos que podrían sugerir preparación para la reproducción, atrayendo a más miembros del entorno como en las sabanas inundadas y lagos marginales, pero también como amenazas a los depredadores potenciales y para así evitar alguna agresión.

5.5 Vías de comunicación

Los canales de comunicación en los peces, y para el propósito de este ensayo, sólo cubren el sabor y el olor, el sonido y la audición, y la generación y recepción eléctrica, hay problemas relacionados con las ventajas y desventajas de cada modalidad. Los siguientes factores varían: 1) el costo en tiempo y energía de las señales de codificación y decodificación, especialmente en relación con el efecto en otras actividades simultáneas; 2) cuán lejanas deben garantizar que las señales tengan efecto; 3) la capacidad de identificar la ubicación de la transmisión; y 4) la garantía de emitir y obtener rápidamente una señal informativa [78].

5.5.1 La vía química

Las sustancias utilizadas como señales químicas se conocen como feromonas. Estas se secretan como líquidos y se transmiten a través de los ambientes acuáticos. La distinción entre sabor y olor en nuestro caso es ambigua, ya que el olor significa transmisión de gases a través del aire y en el agua no siempre está claro, especialmente cuando algunos gases son expulsados a través de las branquias. El sabor es fundamental para los bagres debido a su estilo de vida asociado al oscuro fondo de ríos y lagos. Así que el cuerpo de estos peces está cubierto casi en su totalidad con papilas gustativas capaces de identificar alimentos o reconocer sitios apropiados para procesos biológicos fundamentales.

El otro aspecto del gusto es la función de las feromonas en los peces. Es importante saber que los individuos no necesariamente tienen que estar cerca unos a otros, pero la transmisión (dirección) en los ríos está restringida o limitada por la dirección del flujo (frontal o lateral), mientras que en lagos o lagunas puede ser centrífuga o esférica. Como señalamos, las feromonas posiblemente en los ancestros era un tipo de comunicación hormonal entre órganos o a nivel celular, que luego evolucionó a señales externas para el apareamiento. Sin embargo, la complejidad de la comunicación química en los peces es bastante similar a la de otros organismos que viven fuera del agua o posiblemente mayor. Vemos que varias familias de peces en el neotrópico utilizan este canal de comunicación y desarrollaron estructuras y glándulas especiales para producir feromonas, como las subfamilias Glandulocaudinae y Stevardinae, y las familias Auchenipteridae y Pimelodidae, o en la epidermis como la sustancia de alarma o “*schreckstoff*” de los peces ostariofísidos discutidos anteriormente como relaciones depredador-presa.

Sin embargo, como hemos señalado anteriormente, Stacey [67] indica que la mayoría de las feromonas hormonales

no se ajustan al concepto tradicional de que las feromonas son señales químicas especializadas, porque su síntesis y liberación parecen ser simplemente consecuencia inevitable de la actividad endocrina reproductiva. Tales feromonas no especializadas, se denominan *espionaje químico* para distinguirlo de la *comunicación química*, y que se ha propuesto es una condición primitiva en la evolución de la feromona hormonal, que se originó cuando los receptores evolucionaron hacia la capacidad para detectar y responder de manera adaptativa, es decir, a beneficiarse de hormonas conspécificas y/o metabolitos hormonales que en esta etapa evolutiva se denominarían estímulos feromonales (**Figura 7, Cuadro 1**) [68, 69, 70].

5.5.2 La vía táctil

La limitación de la comunicación por el tacto es claramente la de la distancia, pero es necesaria y complementaria a otras vías de comunicación en los peces. El contacto cercano en un mundo oscuro, con escasa luz, es común, ya que vemos la variedad de estructuras desarrolladas como órganos de contacto en la temporada reproductiva en los peces. Aunque hay un costo energético en el desarrollo de esas estructuras, se ha sugerido que seleccionados para aumentar la probabilidad de apareamiento, se garantiza así, la descendencia. El contacto estrecho puede adoptar formas especializadas en contextos sexuales en especies de fertilización interna, como los bagres auquenípteros, y provocar reacciones especializadas; de hecho, en muchas especies de peces la ovulación y/o los cambios hormonales asociados con la maduración de los testículos y ovarios son inducidos por las consecuencias táctiles de estas estructuras sexuales secundarias.

5.5.3 La vía acústica

Claramente, las formas acústicas o sonidos de comunicación animal tienen una mayor similitud superficial con el habla humana, que las señales químicas o visuales. Aparte de ello, este canal acústico comparte con la olfacción las virtudes de la transmisión de difusión a distancias considerables a través del agua, y su uso en la oscuridad o cuando se interrumpen las líneas de visión. Es discutible que en los animales que escuchan, deben especializarse con el propósito de la comunicación social, en lugar de la búsqueda de alimentos y la evitación de depredadores. En otros, en cambio, el sentido acústico se utiliza como la principal vía para la detección de presas por ecoubicación (peces ostariofisinos). Los peces desarrollaron el sistema de la línea lateral que es probablemente el dispositivo de audición más primitivo en los vertebrados. La línea lateral se desarrolló en los primeros ancestros de las lampreas y peces mandibulados (**Figura 15**), sistema que es capaz de detectar una variedad de vibraciones transmitidas en el agua,

así como detectar diferentes presiones del agua o cambios en las profundidades. Otra función como hemos discutido anteriormente, es producir una vibración estridulante como una señal de alarma o de estrés producida por los bagres doradoideos y loricáridos para evitar ser capturados por aves y reptiles.

Muchos bagres dorados y loricáridos producen sonidos a través de la compresión de la vejiga de gas. Tienen una musculatura especial (músculos sónicos) vinculados a la vejiga de gas que soplan gases a través del intestino o el esófago. Estos sonidos que se expelen a través de la boca, las branquias o la apertura anal, pueden tener una regulación importante para cambiar las frecuencias y los tonos dependiendo del factor biológico o ambiental, y podrían ser importantes para el reconocimiento de especies. Los caribes o pirañas (familia Serrasalmodae) por otro lado, son conocidos por ser animales productores de sonido. Sin embargo, el significado biológico de las llamadas de los caribes sigue sin estar claro, porque los sonidos se han grabado sólo cuando los ejemplares fueron sostenidos a mano o atrapados en una red de enmalle. Sin embargo, los cardúmenes de caribes se sienten atraídos por la vibración agónica de los animales que caen al agua y el ataque a los mismos muestran un frenesí sonoro impactante. Esto también es cierto como el comportamiento de varias especies de carácidos (tetras y muchas otras especies de pequeño porte) que dependen de organismos alóctonos, es decir, insectos terrestres, semillas y flores como alimento [86]. Una condición pobremente estudiada en familias de bagres y otros grupos migratorios de agua dulce, como los proquilodóntidos y los carácidos es el sonido que emiten. Varias hipótesis han surgido para algunas especies que emiten sonidos fuertes durante los desplazamientos a grandes distancias a lo largo del río o ribazones. Posiblemente en estas especies el sonido emitido tiene el propósito de acumular ejemplares en estos viajes masivos y mixtos hacia las aguas superiores, análogos como anotamos anteriormente a las llamadas de loros o los patos, entre otros, durante sus largos vuelos.

Tenemos que concluir que las vocalizaciones, o muchos ruidos de cortejo producidos por los peces, son formas obviamente especializadas de enviar señales sociales. Esto es común en la mayoría de los animales (exceptuando primates), la producción sonora comunicativa es con frecuencia escasa (es decir, la variedad de diferentes sonidos especializados). Esto puede ser contrastado con el uso de señales químicas, donde, dado que el receptor puede ser sensible a sólo la transmisión de una molécula libre, cantidades minúsculas de feromonas son suficientes para producir una respuesta dramática. Esto plantea la cuestión de, por qué el canal auditivo, debe preferirse alguna vez sobre el producto químico para la transmisión del

mensaje. Las presuntas ventajas del canal acústico están en su alta capacidad de transporte para una transmisión en serie rápida, y en las posibilidades de localización rápida y precisa de la fuente, que aunque no es tal vez tan directa como las de las señales visuales (nulas en un mundo oscuro), son en general mucho más favorables que la de los productos químicos dispersos [78].

5.5.4 La vía eléctrica

La adaptación a la electrogeneración y a la electrorecepción es común en los peces. La generación eléctrica actualmente se conoce para cerca de cientos de especies, mientras que los tejidos especializados para la electrorecepción se conocen en aproximadamente 5.400 especies de vertebrados (**Cuadro 3**). Aproximadamente 2/3 de las especies electroreceptivas son bagres (orden Siluriformes) y peces eléctricos (orden Gymnotiformes). Los bagres y los peces eléctricos o cuchillos son peces que habitan y comparten áreas en el fondo de ríos y lagos suramericanos. Sin embargo, hay una relación depredador-presa entre ellos. En general, el bague se alimenta sobre los peces eléctricos. Así, mientras que la electrogénesis y la función de electrorecepción funciona particularmente para la electrolocalización y la electrocomunicación en los cuchillos, la electrorecepción es fundamental para que el bague localice y obtenga alimentos.

5.6 Cuestiones teóricas en la comunicación de los peces

La descripción general que se da en este ensayo inevitablemente trata algunos supuestos teóricos sobre sus funciones de comportamiento, y las ventajas relativas de los diversos canales sensoriales. Sin embargo, hay algunos puntos adicionales para poner fin a este debate y observaciones concluyentes.

Desarrollo evolutivo. Varios teóricos sobre la evolución de los mecanismos comunicativos están influenciados desde las primeras obras de Darwin. Algunos se iniciaron con principios generales que hoy se reflejan en cierta medida en los análisis más recientes del tema:

- Hábitos asociados útiles, que pueden interpretarse como la noción de que las acciones que inicialmente evolucionaron pueden llegar a ser seleccionadas por otras razones con fines comunicativos más especializados, como los movimientos auditivos en gatos, la expresión facial del miedo, entre otros.
- La acción directa del sistema nervioso. Su ejemplo acá es el temblor, que ocurre tanto en personas como en animales en condiciones de miedo o excitación. El argumento es que los movimientos temblorosos son un efecto secundario de la tensión muscular y excitadora, en lugar de la transmisión de una señal especializada. En general, entonces es necesario separar los intereses de los remitentes y receptores de posibles mensajes.
- El último de los tres principios de Darwin es el de la antítesis. La cola de un perro indica felicidad cuando se sube, pero indica tristeza cuando se baja entre sus piernas; en general, las emociones opuestas se expresan mediante movimientos opuestos. Esto simplifica sin duda tanto la producción como la interpretación de los mensajes.

5.7 Comunicación y ecología

El análisis de la comunicación animal está dirigido a descubrir sus funciones, ampliamente caracterizadas anteriormente en este ensayo. Las variaciones en las modalidades utilizadas, y en las relaciones esbozadas entre las señales producidas y las respuestas suscitadas por ellas, deberían ser explicables en términos de los detalles de las circunstancias ambientales a las que una especie determinada se adapta, aunque caso por caso. El entorno físico limita claramente las opciones de modalidad en el ejemplo de la ausencia de comunicación visual en especies nocturnas o que viven en ambientes de total oscuridad, y una inspección más detallada revela correspondencias entre, por ejemplo, las características precisas de los sonidos producidos y aquellos más adecuados para una dispersión óptima en determinadas condiciones geográficas. El entorno social de una especie y los individuos dentro de ella no es menos importante. Hemos discutido anteriormente las hipótesis de relación depredador-presa (acústica, morfológica y eléctrica) y la posibilidad de atracción de parejas mediante comunicación química, que son algunos ejemplos de adaptación a este tipo de medios donde la visión es limitada.

5.8 Restricciones heredadas o universales (aprendizaje)

Finalmente, la suposición de que los sistemas de comunicación animal han evolucionado para adaptarse a determinadas circunstancias de las especies lleva, siendo otras cosas iguales, a la expectativa de que tanto la estructura de los órganos motores y sensoriales empleados para estos fines, como las funciones de control del comportamiento de los sistemas nerviosos que los controlan, se determinarán innatamente como Walker [78] discute ampliamente. Sin embargo, hay excepciones a esta expectativa, al menos en peces gymnotiformes y loricáridos. La condición principal, es que los individuos en grupos sociales aprenden a reconocerse entre sí por la frecuencia de la señal eléctrica (pulso u onda), la producción de sonido estridulado o la llamada en especies

migratorias, y el sabor en las especies de pimelódidos, loricáridos y glandulocaúninos y stevárninos. Por otro lado, esto puede ser la explicación de la gran variabilidad mostrada en los peces eléctricos de la familia Apternotidae, donde cada especie tiene aparentemente un dialecto particular que les permite comunicarse con los conspecíficos. Sería interesante demostrar experimentalmente, si también esta comunicación puede ir más allá del simple reconocimiento para lograr transmisión en otros aspectos del comportamiento biológico.

Estos últimos párrafos serían la consolidación del “rompecabezas” o las piezas finales de la explicación de las historias de vida de animales silvestres. Es, sin lugar a dudas, lo que mayormente atrae al biólogo que pretende utilizar esta información para la conservación y/o el uso de un recurso en forma sustentable.

Referencias

- [1] Bass, A. H. and Clark, C. W. The physical acoustics of underwater sound communication, en: *Acoustic Communication*, A. M. Simmons, A. N. Popper, and R. R. Fay (Eds.), (Springer, New York, 2003). <https://doi.org/10.1007/b98903>.
- [2] Ladich, F. Ecology of sound communication in fishes, *Fish and fisheries* **20**, 552-563 (2019)
- [3] Tavolga, W. N. Mechanisms for directional hearing in the sea catfish (*Arius felis*), *Journal of Experimental Biology* **67**, 97- 115 (1977).
- [4] Brick, O. Fighting behaviour, vigilance and predation risk in the cichlid fish, *Nannacara anomala*- *Animal Behaviour* **56**, 309-317 (1998). <https://doi.org/10.1006/anbe.1998.0782>.
- [5] Ladich, F. and Fine, M. L. Sound production, spine locking, and related adaptations, In: *Catfishes*, Ladich F, Collin SP, Moller P, Kapoor BG, (Eds.), (Science Publishers, Enfield, 2003), pp. 249-290.
- [6] Ladich, F. and Myrberg, A. A. Agonistic behaviour and acoustic communication In: *Communication in Fishes*. F. Ladich, S. P. Collin, P. Moller, and B. G. Kapoor (Eds.), (Science Publishers, Enfield, 2006), pp. 122-148.
- [7] Amorim, M.C. P. Diversity in sound production in fish. In: *Communication in Fishes*. F. Ladich, S. P. Collin, P. Moller and B. G. Kapoor (Eds.), (Science Publishers, Enfield, 2006), pp. 71-105.
- [8] Fine, M. L. and Parmentier, E. Mechanisms of fish sound production. In: *Sound Communication in Fishes*, F. Ladich (Ed.), (Springer-Verlag, Wien, 2015), pp. 77-126.
- [9] Van Oosterom, L., Montgomery, J. C., Jeffs A. G. and Radford, C. A. Evidence for contact calls in fish: Conspecific vocalizations and ambient soundscape influence group cohesion in a nocturnal species. *Scientific Reports* **6**, 19098 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep19098>
- [10] Parmentier, F., Elsley, J. V. and Ljungberg, J. K. Behavioral distraction by auditory novelty is not only about novelty: The role of the distracter’s informational value, *Cognition* **115** (3), 504-511 (2010). <https://doi.org/10.1016/j.cognition.2010.03.002>
- [11] Tavolga, W. Mechanisms of Sound Production in the Ariid Catfishes *Galeichthys* and *Bagre*. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. **121**, 1-30 (1962).
- [12] Ladich, F. Comparative analysis of swimbladder (drumming) and pectoral stridulation sounds in three families of catfishes. *Bioacoustics* **8**, 185-208 (1997).
- [13] Ladich, F. and M. L. Fine. Sound-generating mechanisms in fishes: A unique diversity in vertebrates, In *Communication in Fishes*. F. Ladich, S. P. Collin, P. Moller, and B. G. Kapoor (Eds.), (Science Publishers, Enfield, 2006), pp. 3-43.
- [14] Weitzman S. H. Hearing in catfishes, especially that of the family Loricariidae, In: *Catfish Atlas Vol 1: South American catfishes of the family Loricariidae, Cetopsidae, Nematogenyidae and Trichomycteridae*, Hans-Georg, E. and Seidel, I. (Eds.), (Hans A. Bänsch, Melle, 2005), pp. 31-39.
- [15] Webb, A. and . Smith, M. E. Sound production in two loricariid catfishes. *The Journal of the Acoustical Society of America* **120**(5), 3103 DOI:10.1121/1.4787556 (2006).
- [16] Webb, A. L. Sound Production in Two Loricariid Catfishes. Master Theses and Specialist Projects. Paper 1089. <http://digitalcommons.wku.edu/theses/1089> (2011).
- [17] Knight, L. and Ladich, F. Distress sounds of thorny catfishes emitted underwater and in air: characteristics and potential significance. *The Journal of Experimental Biology* **217**, 4068-4078 (2014).
- [18] Verzijden M. N., van Heusden, J., Bouton N., Witte, F. ten Cate, C. and Slabbekoorn, H. Sounds of male Lake Victoria cichlids vary within and between species and affect female mate preferences. *Behavioral Ecology* **21**, 548-555 (2010).
- [19] Fine M. L. Seasonal and geographic variation of the mating call of the oyster toadfish *Opsanus tau*. *Oecologia* **36**, 45-57 (1978).
- [20] Connaughton, M. A., Fine M. L. and Taylor, M. H. Weakfish sonic muscle: Influence of size, temperature and season. *Journal of Experimental Biology* **205**, 2183-2188. (2002).
- [21] Kaatz, I. and Stewart, D. J. Bioacoustic variation of swimbladder disturbance sounds in Neotropical doradoid catfishes (Siluriformes: Doradidae, Auchenipteridae): Potential

- morphological correlates. *Current Zoology* **58** (1), 171-188 (2012).
- [22] Machado-Allison, A. Estudios sobre la sistemática de la Subfamilia Serrasalminae (Teleostei, Characidae). Parte II. Discusión sobre la condición monofilética de la Subfamilia. *Acta Biológica Venezolana* **11**(4), 145-195 (1983).
- [23] Millot, S. Vandewalle, P. and Parmentier, E. Sound production in red-bellied piranhas (*Pygocentrus nattereri*, Kner): an acoustical, behavioural and morphofunctional study. *Journal of Experimental Biology* **214**, 3613-3618 (2011).
- [24] Slabbekoorn H., Verzijden M., and May C. Cichlid Courtship Acoustics: Signals and Noise Influence Reproductive Behavior. In: *The Effects of Noise on Aquatic Life. Advances in Experimental Medicine and Biology*, Popper A.N. and Hawkins A. (eds)(Springer, New York, 2012), vol. 730, pp. 407-409. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7311-5_93
- [25] Fine M. L. Seasonal and geographic variation of the mating call of the oyster toadfish *Opsanus tau*. *Oecologia* **36**, 45-57 (1978).
- [26] Ladich, F. Collin, P. Moller, P. and Kapoor, G. (Eds.). *Communication in Fishes*, Vol.1. (Science Publisher, Enfield, 2006).
- [27] Kaatz, I. M. The behavioural and morphological diversity of acoustic communication systems in a clade of tropical catfishes (Pisces, Siluriformes). Ph.D. Dissertation, State University New York, Syracuse (1999).
- [28] Karlson, P. and Luscher, M. 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature* **183**, 55-56 (1959).
- [29] Solomon, D. J. A review of chemical communication in freshwater fish. *Journal of Fish Biology* **11**, 363-376 (1977).
- [30] Liley, N. R. Chemical communication in fish. *Canadian Journal of fish and Aquatic Sciences* **39**, 22-35 (1982).
- [31] Sorensen, P. and Stacey, N. Brief review of fish pheromones and discussion of their possible uses in the control of non-indigenous teleost fishes. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* **38**, 399-417 (2004).
- [32] Bronmark, C. and Lars-Anders, H. Chemical communication in aquatic systems: an introduction. *Oikos* **88**, 103-109 (2000).
- [33] Chivers, D. P. and Smith, R. J. F. Chemical alarm signaling in aquatic predator-prey systems: a review and prospectus. *Ecoscience* **5**, 338-352 (1998).
- [34] Kats, L. B. and Dill, L. M. The scent of death: chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience* **5**, 361-394 (1998).
- [35] Miles, S. G. Rheotaxis of elvers of the American eel (*Anguilla rostrata*), in the laboratory to water from different streams in Nova Scotia. *J. Fish. Res. Board. Can.* **25**, 1591-1602 (1968).
- [36] Batista, J. S. and Gomes, J. A. Phylogeography of *Brachyplatystoma rousseauxii* (Siluriformes - Pimelodidae) in the Amazon Basin offers preliminary evidence for the first case of "homing" for an Amazonian migratory catfish. *Genetics Molecular Research* **5**, 723-740 (2006).
- [37] Duponchelle, F., Pouilly, M., Donard, A., et al. *Natal homing del dorado, Brachyplatystoma rousseauxii, en el río Madeira*. IVth. International conference. Research Network on Amazonian Ichthyofauna. Cochabamba, Bolivia (2014).
- [38] Von Frisch, K. Zur psychologie des Fische-Schwarmes. *Naturwissenschaften* **26**, 601-606 (1938).
- [39] Sorensen, P. W. Hormones, Pheromones and Chemoreception. In: *Fish chemoreception*. Hara, T. J. (Ed.), (Chapman and Hall, London, 1992), pp. 199-228.
- [40] Chivers, D. P., Brown, G. E. and Smith, R. J. F. The evolution of chemical alarm signals: Attracting predators benefits alarm signal senders. *The American Naturalist* **148**, 649-659 (1996).
- [41] Hamilton, W. G. The evolution of altruistic behavior. *American Naturalist* **97**, 354-356 (1963).
- [42] Smith, R. J. F. Alarm signals in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **2**, 33-63 (1992).
- [43] Wourms, J. P. and Lombardi, J. Reflections on the evolution of piscine viviparity. *American Zoologists* **32**, 276-293 (1992).
- [44] Goodwin, N. B, Dulvy N. K. and Reynolds, J. D. Life history correlates of the evolution of live bearing in fishes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **357**, 259-267 (2002).
- [45] Stacey, N. E. and Sorensen, P. W. Hormonal pheromones in fish. In: *Hormones, Brain and Behavior*. D. W. Pfaff, A. P. Arnold, A. M. Etgen, S. E. Fahrbach and R. T. Rubin (Eds.). (Academic Press, New York, 2002), Vol. 2, pp. 375-434.
- [43] Stacey, N. Hormones, pheromones and reproductive behavior. *Fish Physiology and Biochemistry* **28**, 229-235 (2003).
- [47] Colombo, L., Marconato, A. Belvedere, P. C. and Frisco, C. Endocrinology of teleost reproduction: a testicular steroid pheromone in the black goby, *Gobius joso* L. *Boll. Zool.* **47**, 355-364 (1980).
- [48] Menezes, N. A. and Weitzman, S. H. Systematics of the neotropical fish subfamily Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology* **7**(3), 295-370 (2009).

- [49] Schaefer, S. A., Weitzman, S. H. and Britski, H. A. Review of the Neotropical Catfish Genus *Scoloplax* (Pisces: Loricarioidea: Scoloplacidae) with Comments on Reductive Characters in Phylogenetic Analysis. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* **141**, 181-211 (1998).
- [50] Mazzoldi, C., Lorenzi, V. and Rasotto, M. B. Variation of male reproductive apparatus in relation to fertilization modalities in the catfish families Auchenipteridae and Callichthyidae (Teleostei: Siluriformes). *Journal of Fish Biology* **70**(1), 243-256 (2007).
- [51] Weitzman, S. H., Fink, S. V., Machado-Allison, A. and Royero, R. A new genus and species of Glandulocaudinae (Teleostei: Characidae) from southern Venezuela. *Ichthyol. Explor. Freshwat.* **5**(1), 45-64 (1994).
- [52] Lahnsteiner, F., Seiwal, M., Patzner, R. A. and Ferrero, E. A. The seminal vesicles of the male grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei, Gobiidae). *Zoomorphology* **111**, 239-248 (1992).
- [53] Mazzoldi, C., Petersen, C. W. and Rasotto, M. B. The influence of mating system on seminal vesicle variability among gobies (Teleostei, Gobiidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **43**(4), 307-314 (2005).
- [54] Taylor, J. N. Field observations on the reproductive ecology of three species of armored catfishes (Loricariidae: Loricariinae) in Paraguay. *Copeia* **1983**(1), 257-259 (1983).
- [55] García-Pinto, L., Quiñones-González, G. y Friso, G. Biología reproductiva de *Hypostomus watwata* (Osteichthyes: Loricariidae), armadillo pintado del Lago de Maracaibo. *Boletín Técnico* **3**, 1-21 (1984).
- [56] Breder, C. M. Jr. and Rosen, D. E. *Modes of reproduction in fishes*. (Natural History Press, New York, 1966).
- [57] Cruz, A. L. and Langeani, F. Comportamento reprodutivo do cascudo *Liposarcus anisitsi* (Eigenmann and Kennedy, 1903) (Ostariophysi, Loricariidae, Hypostominae) em cativeiro. *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Série Zoologia* **3**, 109-115 (2000).
- [58] Wiley, M. L. and Collette, B. Breeding tubercles and contact organs in fishes: their occurrence, structure and significance. *Bulletin of the American Museum of Natural History* **143**(3), 143-216 (1970).
- [59] Machado-Allison A. *Los Peces del Llano de Venezuela: un ensayo sobre su Historia Natural*. (3ra. ed.) (CDCH-UCV, Caracas, 2005).
- [60] Machado-Allison, A. and Zaret, T. Datos sobre la Biología Reproductiva de *Hoplosternum littorale* (Siluriformes-Callichthyidae) de Venezuela. *Acta Científica Venezolana* **35**(2), 142-146 (1984).
- [61] Chernoff, B., Machado-Allison, A., Riseng, K. and Montambault, J. R. (Eds.). A Biological Assessment of the Aquatic Ecosystems of the Caura River Basin, Bolívar State, Venezuela. *RAP Bulletin of Biological Assessment*. Conservation International Washington, D.C., USA (2003).
- [62] Rodríguez, M. S., Cramer, C. A. Bonatto, S. L. and Reis, R. E. Taxonomy of *Ixinandria* Isbrücker and Nijssen (Loricariidae: Loricariinae) based on morphological and molecular data. *Neotropical Ichthyology* **6**(3), 367-378 (2008).
- [63] Román-Valencia, C., García-Alzate C. A. Ruiz-C., R. I. and Taphorn, D. C. A new species of *Tytttocharax* (Characiformes: Characidae: Stevardiinae). from the Güejar River, Orinoco River Basin, Colombia. *Neotropical Ichthyology* **10**(3), 519-525 (2012).
- [64] Chamon, C. Redescription of *Acanthicus hystrix* Agassiz, 1829 (Siluriformes: Loricariidae), with comments on the systematics and distribution of the genus. *Zootaxa* **4088**(3), 395-408 (2016).
- [65] Narayanan, A. and Stacey, N. E. Olfactory responses to putative steroidal pheromones in allopatric and sympatric species of Mochokid catfish. *Fish Physiology and Biochemistry* **28**, 275-276 (2003).
- [66] Cole, T. B. and Stacey, N. E. Olfactory responses to steroids in an African mouth brooding cichlid, *Hoplochromis burtoni* (Gunther). *J. Fish. Biol.* **68**, 661-680 (2006).
- [67] Stacey, N. Hormonally derived pheromones in teleost fishes. In: *Fish pheromones and related cues*. P. Sorensen and B. Wisenden (Eds.). (Wiley, New York, 2014).
- [68] Sorensen, P. W. and Stacey, N. E. Evolution and specialization in fish hormonal pheromones. In: *Advances in Chemical Signals in Vertebrates*. R. E. Johnston, D. Müller-Schwarze, P.W. Sorensen (Eds.), (Plenum Press, New York, 1999), pp. 15-48.
- [69] Stacey, N. E., Wisenden, B. D. and Sorensen, P. W. Chemical communication in fish. In: *Chemical Ecology*. Jorg D. Hardege (ed). (EOLSS-UNESCO, Oxford, 2009), pp. 314-343.
- [70] Stacey, N. Hormonally derived sex pheromones in fishes. In: *Hormones and reproduction in vertebrates*. Vol. 1-Fishes. Norris, D. and López, K. (Eds.) (Academic Press, London, 2011), pp. 169-192.
- [71] Sorensen, P. Introduction to pheromones and related chemical cues in fishes. In: *Fish pheromones and related cues*. P. Sorensen and B. Wisenden (Eds.). (Wiley, New York, 2015), pp. 1-9.

- [72] Zakon, H. The electroreceptive periphery. In: *Electroreception*. T. H. Bullock and F. Heiligenberg (Eds.). (Wiley, New York, 2015), pp. 103-156.
- [73] Kramer, B. Electroreception and Communication in Fishes. *Progress in Zoology* **42**, 1-119 (1996).
- [74]. Albert, J. and Crampton, W. Electroreception and Electrogenesis. In: *The Physiology of Fishes*, 3rd. Edition, D. Evans and J. Claiborne (Eds.). (Taylor and Francis, Boca Raton, 2006), pp. 430-470.
- [75] Moller, P. *Electric fishes: History and Behavior*. (Chapman and Hall, New York, 1995).
- [76] Kirschbaum, F. and Schwassmann, H. O. Ontogeny and evolution of electric organs in gymnotiform fish. *Journal of Physiology* **102**(4-6), 347-356 (2008).
- [77] Turner, C. R., Derylo, C. M., de Santana, J. A., Alves-Gomes, J. and Troy Smith, G. Phylogenetic comparative analysis of electric communication signals in ghost knifefishes (Gymnotiformes: Apterontidae). *The Journal of Experimental Biology* **210**, 4104-4122 (2007).
- [78] Walker, S.F. Animal Communication. In: *Concise Encyclopedia of Pragmatics*, May, J. L. (ed.), (Elsevier, Amsterdam, 1998), pp. 26-35.
- [79] Wilson, E. O. *Sociobiology*. (Harvard University Press, Cambridge, 1975).
- [80] Widensen, B. Chemical cues that indicate risk of predation. In: *Fish pheromones and related cues*. P. Sorensen and B. Wisenden (Eds.). (Wiley, New York, 2015), pp. 131-148.
- [81] Goulding, M. *The fishes and the forest, explorations in Amazonian natural history*. (University of California Press, Los Angeles, 1980).
- [82] Burns, J. R., Meisner, A. D. Weitzman, S. H. and Malabarba, L. R. Sperm and spermatozeugma ultrastructure in the inseminating catfish *Trachelyopterus lucenai* (Ostariophysi: Siluriformes: Auchenipteridae). *Copeia* **2002**(1), 173-179 (2002).
- [83] Machado-Allison, A. Aspectos sobre la historia natural del "curito" *Hoplosternum littorale* (Hancock, 1828) (Siluriformes Callichthyidae) en los bajos llanos de Venezuela: desarrollo, alimentación y distribución espacial. *Acta Científica Venezolana*. **37**(1), 72-78 (1986).
- [84] Secutti, S. and Trajano, E. Reproductive behavior, development and eye regression in the cave armored catfish, *Ancistrus cryptophthalmus* Reis, 1987 (Siluriformes: Loricariidae), breed in laboratory. *Neotropical Ichthyology* **7**(3), 479-490 (2009).
- [85] Mago-Leccia, F. Estudios preliminares sobre la ecología de los peces de los llanos de Venezuela. *Acta Biológica Venezuelica* **7**(1), 71-102 (1970).
- [86] Marrero, C., Machado-Allison, A., González-B., V. y Velásquez, J. Ecología y distribución de los peces de los morichales de los llanos orientales de Venezuela. *Acta Biológica Venezuelica* **17**(4), 65-79 (1997).

ADAPTABILIDAD DE *LEISHMANIA* Y SU IMPLICACIÓN EN LA RESISTENCIA A DROGAS (*)

Alicia Ponte-Sucre

RESUMEN

El fracaso terapéutico es un fenómeno multifactorial no siempre vinculado a la resistencia a drogas del parásito infectante. Hay determinantes de flexibilidad en *Leishmania* que condicionan este fracaso y modulan la expresión de la quimioresistencia. Los estudios presentados consolidan el concepto de que la quimioresistencia en *Leishmania* incluye, además del aumento de la expresión de transportadores ABC, alteración de funciones del parásito como la infectividad (fosfatasa ácida y proteína meta-1), el metabolismo intracelular y la fosforilación oxidativa (aminoácidos y carbohidratos fundamentales para la supervivencia), la interacción hospedero-parásito (aglutinación por lectinas, potencial de membrana) y la morfología del organismo. La comprensión de la adaptación asociada al fenotipo quimioresistente es esencial en el desarrollo de herramientas para el control de la enfermedad, especialmente en zonas geográficas donde la resistencia a drogas es un problema clínico común. El objetivo de esta investigación ha sido validar marcadores celulares en parásitos provenientes de pacientes con fracaso terapéutico tratados con drogas clásicas usadas contra la leishmaniasis. Su valor pronóstico para el éxito del tratamiento podría ser esencial en un mundo de quimioresistencia emergente.

ABSTRACT

Therapeutic failure is a multifactorial phenomenon, not always linked to drug resistance from the infecting parasite. In *Leishmania*, determinants of flexibility condition therapeutic failure and may modulate chemo-resistance. Herein I present studies that consolidate the concept that chemo-resistance includes in *Leishmania*, additionally to an increase in the expression of ABC transporters, changes in functions such as parasite infectivity (acid phosphatase and meta-1 expression), intracellular metabolism and oxidative phosphorylation (amino acids and carbohydrates fundamental for parasite survival), host-parasite interaction (lectin agglutination and membrane potential) and organism morphology. The comprehension of the adaptability expressed by chemo-resistance is essential for the development of tools for disease control, especially in geographic zones where drug resistance is a clinical problem. The goal of the herein presented investigation was to validate cellular markers in parasites isolated from patients with chemotherapeutic failure against classical leishmanicidal drugs. Their prognostic value for treatment success might be essential in world with emergent chemo-resistance.

Palabras clave: *Leishmania*, adaptabilidad, fracaso terapéutico, resistencia a drogas, marcadores celulares.

Keywords: *Leishmania*, fitness, therapeutic failure, drug resistance, cellular markers

1. Introducción

Catalogada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como enfermedad infecciosa Categoría I -situación emergente e incontrolada e incluida en la lista de enfermedades tropicales desatendidas, NTD [1]-, la leishmaniasis es endémica en 98 países; 14 millones de personas permanecen infectadas y más de 350 millones se encuentran en riesgo [2]. Alrededor de 1,3 millones de personas contraen la enfermedad anualmente; 300.000 casos corresponden a leishmaniasis visceral (LV, con 90 % de pacientes en Bangladesh, Brasil, Etiopía, India, Nepal y

Sudán) y 1.000.000 corresponden a leishmaniasis tegumentaria (LT, principalmente en Afganistán, Arabia Saudita, Argelia, Bolivia, Brasil, Colombia, Irán, Pakistán, Perú, Siria y Túnez). El estimado de muertes por LV oscila entre 20.000 y 50.000 fallecidos cada año [1]. Estas cifras constituyen la *punta del iceberg*, ya que sólo 40 de los 98 países donde la enfermedad es endémica reportan adecuadamente sus estadísticas sanitarias a la OMS [1].

Los protozoarios del género *Leishmania* producen diversas manifestaciones de la enfermedad. Los síntomas están

(*) Trabajo de Ingreso como requisito parcial para optar a Miembro Correspondiente Nacional de la Academia de Ciencia Físicas, Matemáticas y Naturales.

determinados por factores ligados al hospedero y a la especie infectante [3]. Clínicamente se han descrito dos categorías de la dolencia, ya mencionadas: LV, causada por especies viscerotrópicas, que se desarrollan mejor a temperaturas superiores a 37 °C, y LT, causada por especies dermatotrópicas, adaptadas a temperaturas cercanas a 35 °C; estas últimas crecen preferencialmente en áreas expuestas de la piel y mucosas [4, 5]. En el Nuevo Mundo, la LT se conoce como Leishmaniasis Tegumentaria Americana (LTA) [6], y puede presentarse como: Leishmaniasis Cutánea Localizada (LCL), Leishmaniasis Cutánea Diseminada (LD), Leishmaniasis Cutánea Difusa (LCD) y Leishmaniasis Mucocutánea (LMC) [4, 6, 7]. Una forma poco común de LT frecuente en pacientes de India, Nepal, Sudán y Etiopía, ocurre luego de tratamientos repetidos e ineficaces contra LV. La misma se denomina Leishmaniasis Dérmica Post kala-azar (LDPK), y está asociada a infecciones recurrentes con *L. donovani* [3].

El estatus inmunológico del paciente determina en gran medida el tipo de leishmaniasis que lo afecta. Individuos anérgicos, sin respuesta inmunológica adecuada, desarrollan LCD, con abundancia de parásitos en las lesiones [7]. Personas normérgicas, con reactividad inmunológica normal, suelen desarrollar LCL, benigna y autolimitante; individuos hipérgicos, con hiperreactividad inmunitaria a los parásitos, desarrollan LMC, lesiones amplias, escasa presencia de parásitos y abundante infiltrado celular [8].

La coinfección *Leishmania*-VIH constituye un problema recurrente. Muchos casos están asociados con LV, mas también se reportan casos de LT [9]. Incluso especies de *Leishmania* típicamente dermatotrópicas, producen LV en pacientes portadores del virus [9, 10]. Ambos patógenos actúan sinérgicamente, favoreciendo la infección recíproca; i.e., el lipofosfoglicano de la membrana celular de *L. donovani* induce la transcripción de VIH *in vitro* en células T-infectadas, mediado por el factor nuclear kappaB [10]. Individuos inmunodeficientes son más vulnerables a leishmaniasis y el riesgo de infección por *Leishmania* spp. es 100-1.000 mayor [7].

En Venezuela, el programa de control de leishmaniasis es responsabilidad del Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina (SAIB), ente adscrito al Ministerio del Poder Popular para la Salud con sede en la ciudad de Caracas [11]. El SAIB dirige, a nivel nacional, los Servicios Regionales de Dermatología Sanitaria, destacados en cada entidad federal.

La LV tiene escasa incidencia en Venezuela (0,03 a 0,24 por cada 100.000 habitantes) [12], a pesar del subregistro [13]. El principal foco se ubica en Nueva Esparta, área geográfica donde el ciclo de vida ha podido trazarse para *L. infantum*,

incluyendo al perro como reservorio y a *Lutzomyia longipalpis* como vector [12, 14]. La LT, constituye un problema de salud pública [12]. Para el período 1990-2018, hubo un total de 66.550 casos en las diversas formas clínicas, con una tasa de incidencia anual que varió entre un mínimo de 5,3 por cada 100.000 habitantes (2014) y un máximo de 12,0 por cada 100.000 habitantes (1992). La LT representa el 99,2 % de los casos reportados cada año, de los cuales 98,00 % corresponden a LCL; 1,04 % LMC y 0,22 % LCD [15].

La incidencia de LT por entidad federal se agrupa en cuatro regiones epidemiológicas: una de alta incidencia (Trujillo y Mérida), con tasas superiores a 30 casos por cada 100.000 habitantes; una segunda región de mediana incidencia (Lara, Sucre, Táchira y Cojedes), con tasas de 20 a 30 casos por cada 100.000 habitantes; una tercera región de baja incidencia (Yaracuy, Miranda y Anzoátegui), con tasas de 10 a 20 casos por cada 100.000 habitantes; y finalmente, el resto de las entidades con escasa incidencia y tasas inferiores a 10 por cada 100.000 habitantes (**Figura 1**) [16].

El 17,89 % de la población, que habita en el 26,88 % de las parroquias del país, está en riesgo moderado a alto de contraer la enfermedad, siendo las zonas montañosas las más afectadas [13, 15]. Durante el período 2000-2013 se diagnosticaron 36 casos de coinfección *Leishmania*/VIH. Un 81 % presentó LT, predominantemente LCL y LMC; las entidades federales más afectadas fueron Bolívar (31 %), Anzoátegui (22 %), Lara (14 %) y Aragua (11 %).

Los esquemas terapéuticos contra la leishmaniasis están en constante revisión y se aplican acorde a la forma clínica, número y localización de lesiones, especie de *Leishmania*, ubicación geográfica, disponibilidad de medicamentos, factores relacionados con el paciente y consideraciones de



Figura 1. Densidad de distribución de leishmaniasis tegumentaria (LT) en Venezuela.

salud pública [1, 17]. En marzo de 2010, la OMS reunió a un “Comité de Expertos en Leishmaniasis” y revisó las recomendaciones sobre el tratamiento y control publicadas en 1990. Como resultado se publicó “*WHO Technical Report Series, 949 - Control of the Leishmaniasis*” [2], actualizada por la Organización Panamericana de la Salud [17], mediante la guía titulada “Leishmaniasis en las Américas: recomendaciones para el tratamiento”, con los esquemas terapéuticos más efectivos en el Nuevo Mundo.

2. Concepto de adaptabilidad

La adaptabilidad (*fitness* en inglés) de un patógeno involucra procesos biológicos que aseguran su supervivencia, reproducción y transmisión al siguiente hospedero. El tratamiento farmacológico promueve la selección de los organismos más flexibles, capaces de sobrevivir en estas condiciones.

En este contexto el fracaso terapéutico es un fenómeno multifactorial no siempre vinculado exclusivamente a la resistencia a drogas del parásito infectante. Adicionalmente, hay determinantes de flexibilidad en *Leishmania* que pueden condicionar este fracaso y modular la expresión de la quimioresistencia. De allí la importancia de la información clínica detallada sobre el paciente, su estado inmunológico y factores relacionados, que afectan la relación hospedero-parásito, la cinética de la infección, la progresión de la enfermedad y el éxito del tratamiento [18].

En parásitos, el término “pericia” y los cambios fisiológicos asociados son motivo de discusión. Por ejemplo, en los apicomplexa, en aislados de *S. mansoni* con respuesta disminuida al praziquantel, hay menor eficiencia reproductiva y capacidad comprometida de competir con otros aislados. [19] Un escenario similar ocurre en especies de *T. gondii* que expresan una mutación de la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR) [20].

En *P. chabaudi* se ha descrito que un mutante resistente a pirimetamina crece más lentamente que su progenitor susceptible a la droga, al replicarse en su presencia; se desarrolla más rápido al ser sembrado en ausencia de la droga [21]. Estos datos sugieren la existencia de mutaciones compensatorias que permiten al parásito lograr una vida “exitosa” en circunstancias adversas. Mutaciones compensatorias se han descrito en plasmodio resistentes a cloroquina [21].

En *Leishmania*, la virulencia, fundamental para la supervivencia y la patogénesis de *Leishmania* en el vector y en el mamífero [22], ha sido un marcador por excelencia de la “pericia” del parásito. La virulencia incluye marcadores cuya merma resulta en la pérdida cuantitativa parcial de la infectividad, y otros vinculados al crecimiento y diferenciación

en cultivo [22, 23]. En *Leishmania*, la adaptabilidad ha sido asociada al concepto de muerte celular programada, mecanismo que garantiza la supervivencia del más apto para lograr la transmisión exitosa al próximo hospedero [24]. Se asume que, si la adaptación representa un conflicto que compromete propiedades fisiológicas intrínsecas de supervivencia del parásito, se paga un costo. Sin embargo, como los tripanosomatídeos son expertos en adaptar fácil y rápidamente su metabolismo energético, y abreviar las condiciones de estrés a las que están constantemente sometidos, incluyendo las impuestas por la presión de la droga, la quimioresistencia puede o involucrar un “costo” (detrimento en su “pericia”) o implicar un beneficio para su “pericia”, tal y como explicaremos posteriormente. La adaptabilidad de un organismo como *Leishmania* además depende de factores adicionales a los intrínsecos que incluyen el estatus nutricional del hospedero, su “salud” inmunológica; la existencia de nichos crípticos; y cambios moduladores adicionales [25].

La interacción entre estos determinantes es compleja y su resultado, la capacidad del parásito de ser transmitido exitosamente al nuevo hospedero, es lo que se determina [24]. Esta propiedad se evidencia en la interfase dinámica que mantiene la integridad del organismo y garantiza una estrecha comunicación entre patógeno y hospedero. Las drogas modulan esa interfase ya que su presencia altera dramáticamente el panorama de adaptabilidad, seleccionando subpoblaciones de parásitos que, debido a sus características fisiológicas, sobreviven a la presión de la droga.

3. Fracaso terapéutico vs. resistencia

Dos de las principales quimioterapias contra leishmaniasis han evidenciado en décadas recientes (en el subcontinente Indio y otras áreas endémicas), la disminución de su eficacia efectiva; este hecho resalta la urgente necesidad de reevaluar las indicaciones de terapia a nivel mundial. El fracaso de la terapia, no siempre está vinculado a la resistencia a drogas del parásito infectante, aunque la quimioresistencia es un determinante fundamental del mismo. La **Figura 2** describe brevemente algunos de los parámetros que condicionan el fracaso terapéutico y modulan la quimioresistencia [25-28].

En el panorama que asocia fracaso terapéutico y quimioresistencia, la flexibilidad del parásito y su “pericia” en adaptarse a ambientes retadores juega un rol fundamental. Por ello, la descripción precisa de qué consideramos resistencia a drogas y cómo la identificamos en aislados clínicos es un desafío para el control y tratamiento de la enfermedad [29].

La resistencia a drogas se define como la disminución de la eficacia a los fármacos en una población previamente susceptible a los mismos. Esta definición asume que se

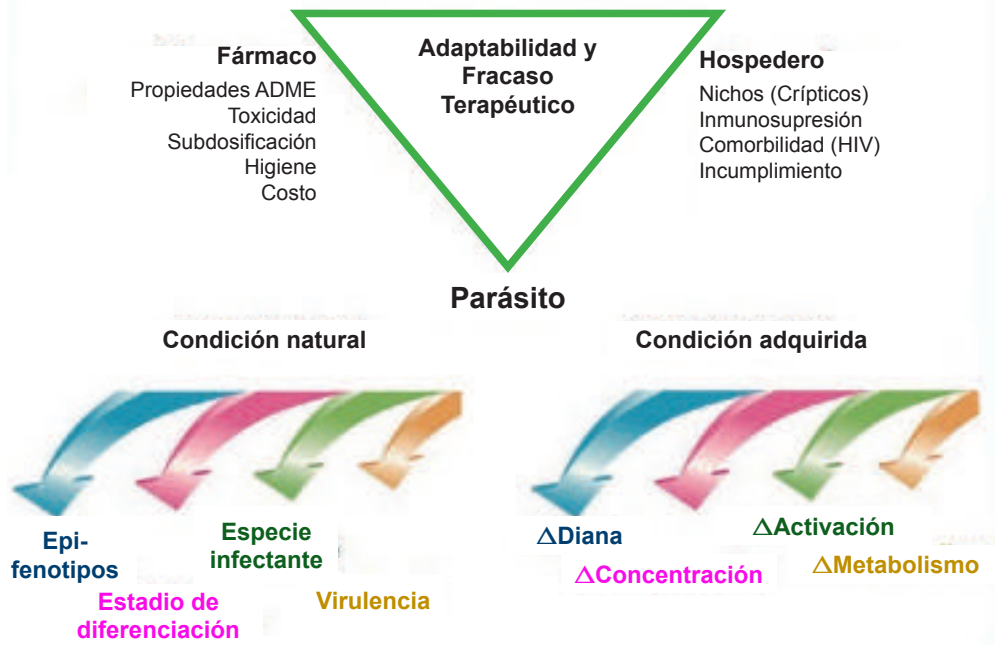


Figura 2. Determinantes de la adaptabilidad de *Leishmania* y su vínculo con fracaso terapéutico. Δ = cambio en la función reseñada. ADME: absorción, distribución, metabolismo y excreción de un fármaco. Tomado de [25]. Reproducido con permiso de la Revista Dermatológica Venezolana.

conoce la susceptibilidad inicial, situación que no siempre se cumple para *Leishmania* [30], parásito en el cual se ha descrito quimioresistencia, natural, como la que presenta *L. (V.) braziliensis* al ketoconazol, y adquirida, promovida por dosis subóptimas de fármacos que seleccionan los parásitos aptos para vivir en condiciones de estrés [31].

Los transportadores ABC (por ATP binding cassette) son proteínas celulares fundamentales cuya función está asociada a la quimioresistencia. Utilizan energía de la hidrólisis del ATP y disminuyen los niveles citoplasmáticos de sus sustratos, entre ellos drogas y fármacos. Dos clases de genes relacionados con transportadores ABC se han identificado en *Leishmania* [30]: uno en el cual los parásitos resistentes presentan amplificación del círculo H, que codifica proteínas de transporte denominadas MRP (por *multidrug resistance associated protein*), diferentes a las P-gp, MDR (por *multidrug resistance*) [32], y otro tipo de genes asociado a la expresión de proteínas de transporte de drogas en células de mamíferos con fenotipo MDR [33].

Adicional a la menor acumulación celular de drogas, mediado por transportadores tipo ABC, hay alteraciones en la permeabilidad de la membrana plasmática que involucran cambios funcionales y bioquímicos. Por ejemplo, *L. mexicana* resistente a anfotericina-B y pentamidina presenta variaciones en los niveles de ácidos grasos saturados, en la fluidez de la membrana [34] y en la actividad de enzimas mitocondriales y la expresión de lipofosfoglicanos [35]. Esto sugiere múltiples mecanismos de quimioresistencia para un tipo de droga, hecho que suscita reacciones cruzadas y sugiere la coexistencia de variados mecanismos de resistencia en la misma célula, actuando sinérgicamente.

En conclusión, debido a su flexibilidad en condiciones de estrés, como es el caso de la presión constante de dosis subóptimas de fármacos, *Leishmania* adapta su metabolismo e infectividad e implementa mecanismos de supervivencia exitosa (i.e., se seleccionan parásitos quimioresistentes). Este proceso se acompaña de cambios fisiológicos como los resumidos en la **Figura 3**, que podrían ser utilizados como herramienta de pronóstico de la terapia a utilizar y, como marcadores de resistencia.

4. Marcadores de resistencia

El método por excelencia para monitorear quimioresistencia en aislados de pacientes es el modelo *in vitro* amastigote-macrófago, técnica laboriosa, que arroja resultados en aproximadamente una semana, tiempo crucial para el paciente. Este hecho, aunado al aumento de la incidencia de casos de leishmaniasis con fracaso terapéutico, urgen a buscar alternativas para identificar si la ineficacia terapéutica se debe a la infección por parásitos quimioresistentes o a causas imputables al hospedero. Es imprescindible entonces identificar marcadores moleculares, fáciles de utilizar en el laboratorio de rutina para guiar la terapia leishmanicida [18, 31]. Los cambios funcionales que ocurren en *Leishmania* asociados a la quimioresistencia, podrían potencialmente ser útiles como marcadores clínicos de infección por aislados resistentes [30, 31].

En el Laboratorio de Fisiología Molecular (LFM) de la Universidad Central de Venezuela se han evaluado fenómenos multifactoriales: genéticos, bioenergéticos y funcionales, cuyos cambios acompañan al fenotipo quimioresistente en modelos de infección. Adicionalmente, se han estandarizado metodologías sencillas y de fácil aplicación, como prueba de concepto de su

utilidad en la identificación de fracaso terapéutico causado por aislados resistentes. En este trabajo se presenta un recuento de lo explorado y su utilidad en este tema.

Primero definiremos operacionalmente la quimioresistencia. Una población de patógenos es quimioresistente cuando su susceptibilidad es menor a un valor determinado de una concentración (X) de una droga específica. Describir la concentración de droga que separa las poblaciones susceptibles de las no susceptibles (punto de corte) es un dilema. Esta(e)-concentración- punto de corte, para ser útil, debe estar fundamentada(o) en evidencias provenientes de múltiples ensayos, preferiblemente en aislados de pacientes. Su finalidad, informar a los médicos para el tratamiento, a los sistemas de salud pública para las políticas públicas, y a los epidemiólogos para definir los patrones y los desplazamientos de la susceptibilidad en el uso de las drogas. La **Figura 4** muestra un flujograma que define la secuencia de ensayos a realizar.

No está claro si los cambios fisiológicos evidenciados en los parásitos son esenciales para la expresión de quimioresistencia, o constituyen epifenómenos no relacionados con la misma. Tampoco lo está si los eventos dependen del parásito o son aspectos inherentes al paciente. Sin embargo, la comprensión de las características que definen a *Leishmania* quimioresistente parece esencial, especialmente en un contexto de investigación multidisciplinaria, transdisciplinaria y traslacional pues constituyen un elemento crucial en la identificación de alternativas terapéuticas, especialmente en escenarios donde la quimioresistencia es un reto constante debido al aumento de casos con fracaso terapéutico.

En el LFM se evaluaron herramientas potencialmente útiles en el laboratorio de rutina para identificar aislados quimioresistentes. Seguidamente se describen estos estudios en especies de referencia, y en tres aislados de pacientes, como prueba de concepto del valor de los mismos.

5. Marcadores evaluados

5.1 Susceptibilidad de *Leishmania* a diferentes compuestos

La susceptibilidad a drogas de los aislados clínicos sería la metodología óptima para predecir el resultado esperado del tratamiento. En este trabajo se incluyó este parámetro como punto de comparación con los otros marcadores a evaluar. Para estandarizar la metodología [27, 36], se utilizaron las especies de referencia de la OMS *L. braziliensis* (LTB300), *L. mexicana* (BEL21) y *L. amazonensis* (LTB0016) que son las que más frecuentemente se identifican en los pacientes en Venezuela. También se incluyó *L. major*, especie del Viejo Mundo causante de LCL como control del ensayo. Como medicamentos se emplearon dos de primera línea contra la leishmaniasis, pentamidina y anfotericina-B y se incluyó glibenclamida, un inhibidor clásico de transportadores ABC. No se utilizó glucantime. Los promastigotes de *Leishmania* son insensibles a este compuesto. Los antimoniales pentavalentes (SbV) son profármacos, requieren una reducción biológica a la forma trivalente (SbIII) para obtener actividad anti-*leishmania* [37]. La GI₅₀ (concentración que causa la inhibición del 50 % del crecimiento celular) se utilizó en lugar del IC₅₀ (concentración que inhibe la actividad biológica en un 50 %) ya que es un

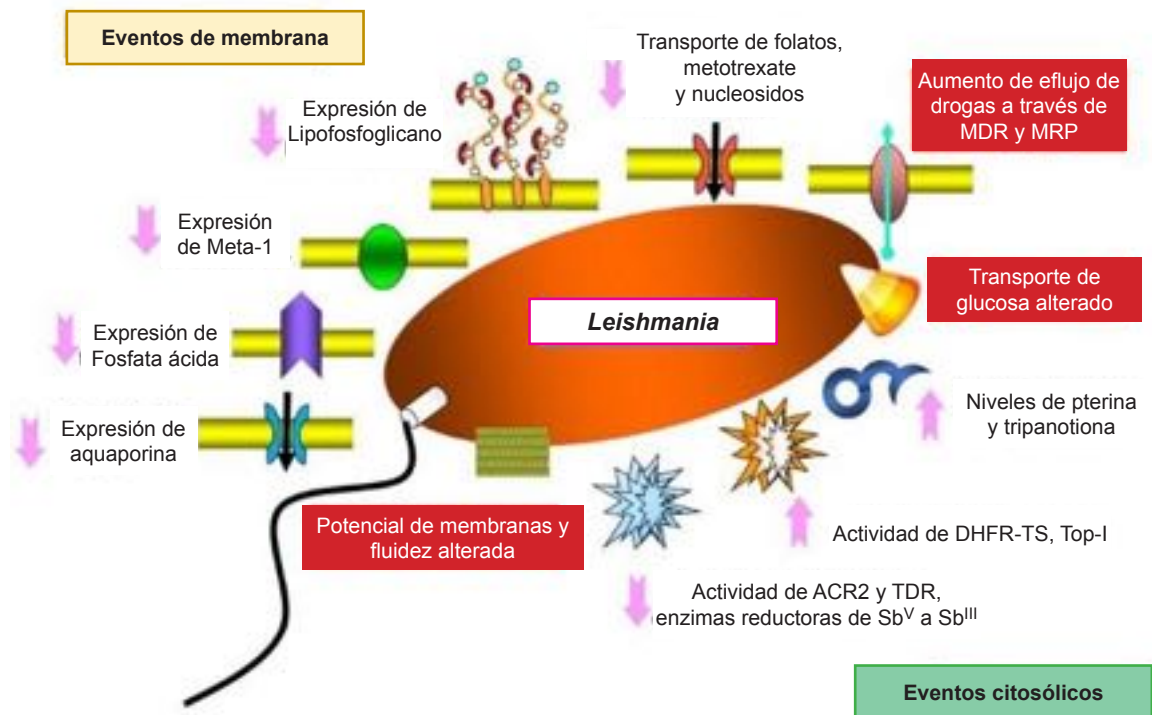


Figura 3. Mecanismos de resistencia en *Leishmania*. DHFR, dihidrofolato reductasa; TS, timidilato sintetasa; Top-I, topoisomerasa-; ACR2, reductasa de antimonio pentavalente; TDR, reductasa dependiente de thioles, modificado de [30]. Reproducido con permiso de Springer Verlag.

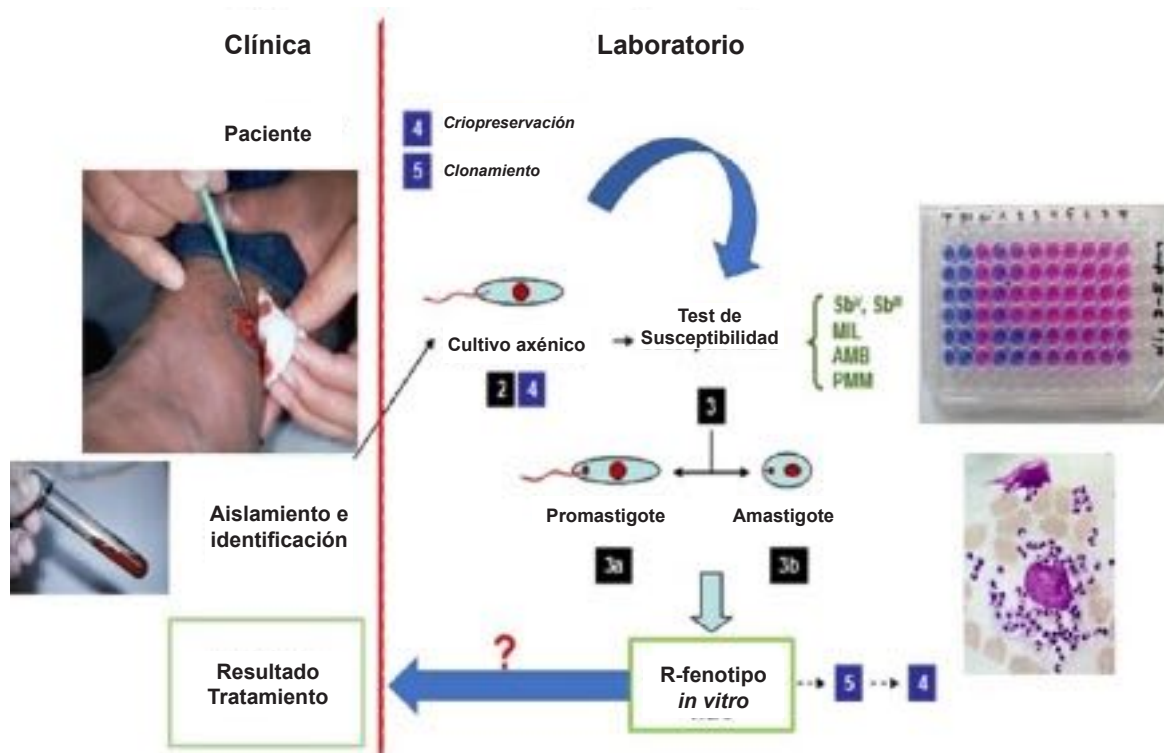


Figura 4. Flujograma de ensayos a realizar para definir la susceptibilidad de parásitos de *Leishmania* de referencia y aislados de pacientes con LV. Válido también para LT. (1) aislamiento del parásito del paciente; (2) cultivo axénico, (3) criopreservación, y (4) clonamiento, del parásito; (5) test de susceptibilidad en promastigotes y amastigotes

parámetro biológicamente adecuado puesto que se evalúa inhibición de crecimiento [38].

Los resultados (ver **Tabla 1**) sugieren [27] que las especies de referencia son susceptibles a anfotericina-B (LTB0016 > LTB300 > Bel21 > *L. major*) en el rango micromolar ($\mu\text{mol/L} = \mu\text{M}$). Para pentamidina, la susceptibilidad difiere (LTB300 > Bel21 > LTB0016 > *L. major*). Con base en estos resultados, y puesto que *L. mexicana* y *L. amazonensis* son responsables de la mayoría de los casos de LCD en Venezuela, los siguientes ensayos se realizaron con *L. mexicana* Bel 21, *L. amazonensis* LTB0016 o sucedaneos.

5.2 Diferenciación y metacicloogénesis de *Leishmania*

La diferenciación celular -o metacicloogénesis- es el proceso mediante el cual ocurren modificaciones coordinadas

Tabla 1. GI₅₀ de las especies de referencia a las 72 horas.

Especie	Glibenclamida (μM)	Pentamidina (μM)	Anfotericina-B (μM)
LTB300	38	1,75	0,25
Bel21	75	4,56	1,05
LTB0016	13,28*	8,84	0,089**
<i>L. major</i>	70	ND	1,5

GI₅₀, Concentración Inhibitoria de crecimiento celular 50. * Tomado de [39]; **Silva-López no publicado. Tomado de [27]. Reproducido con permiso de Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica.

del metabolismo y la morfología de *Leishmania* que se correlacionan con la transformación de los parásitos a infectivos. La metacicloogénesis está vinculada a lapsos específicos de la cinética de crecimiento y a la densidad celular, que pueden emularse *in vitro* al pasar los parásitos de fase logarítmica a fase estacionaria, fase en la cual, la forma recuerda ampliamente la fase metacíclica de crecimiento observada *in vivo*.

Alteraciones de la cinética de crecimiento podrían representar cambios en la diferenciación y virulencia celular; a su vez podrían estar influenciados por la quimioresistencia; i.e., en aislados de pacientes con LV, infectados con *L. donovani* resistentes a antimoniales, se ha demostrado *in vitro*, una mayor tasa de metacicloogénesis [40]. Por el contrario, en *L. amazonensis* se demostró que la quimioresistencia se asocia a menores tasas de metacicloogénesis [41, 42] y que la cinética de crecimiento difiere entre parásitos quimiosensibles y quimioresistentes [36, 43].

La divergencia de comportamiento entre las especies de *Leishmania* permite intuir el rol de la diversidad de especies en el espectro clínico de la enfermedad y su respuesta a la presión de la quimioterapia; adicionalmente sugiere que la adaptabilidad de los parásitos en condiciones de estrés es amplia y se traduce en ganancia o costo, en la pericia, dependiendo de la especie en estudio. Existen ejemplos en los cuales el cultivo de parásitos quimioresistentes en ausencia de drogas,

produce un rebote de crecimiento con fases logarítmicas más veloces que las evidenciadas en organismos silvestres [40, 44]. Esto permitiría suponer un retorno al fenotipo original y dudar de si la modificación de comportamiento observada es persistente, o si realmente estamos en presencia de un ejemplo de flexibilidad del organismo estudiado. *Leishmania* exhibe amplios rangos de velocidad de replicación, aún en ausencia de cambios genéticos asociados a quimioresistencia; es decir, la velocidad de replicación y los cambios de la misma, constituyen parámetros cuya alteración no necesariamente está vinculada a la quimioresistencia. Las variaciones en el crecimiento por tanto podrían no ser predictivas de la “pericia” del parásito.

Los parásitos metacíclicos son pequeños y delgados [42], y expresan carbohidratos de superficie característicos del estadio de desarrollo del parásito. En el LFM se evaluaron algunos de estos parámetros como potenciales marcadores de quimioresistencia. Nuestros resultados demuestran cómo *L. mexicana* resistente [NR(Gr)] a glibenclamida, un inhibidor de transportadores ABC, presenta una mayor área tanto en fase exponencial y estacionaria de crecimiento, que los parásitos sensibles [41, 42], igual que en otras especies de *Leishmania*. [44]. NR(Gs) fue aislada de un paciente y adaptada al laboratorio; en el LFM se indujo resistencia al inhibidor de transportadores ABC, la glibenclamida [NR(Gr)].

Los parásitos quimioresistentes en fase estacionaria son menos susceptibles al ataque por el complemento del suero humano que las células sensibles; esto sugiere una modificación de la expresión de los carbohidratos de superficie [41, 42, 44]. Nuestros datos demuestran que *L. mexicana* quimioresistente expresa menos META-1 que las células quimiosensibles [41, 42]. META-1, producto del gen meta-1 fue descrito originalmente en *L. major* [45], está muy conservado en leishmanias del Viejo y Nuevo Mundo, predominantemente expresado en parásitos metacíclicos [46.] Los resultados sugieren que este parámetro podría formar parte de una batería de marcadores de quimioresistencia en aislados de pacientes infectados con *Leishmania*, con fracaso terapéutico; sin embargo, se necesita más de una semana para la obtención de resultados, un obstáculo para su implementación en laboratorios de rutina.

5.3 Funcionalidad de transportadores ABC

La variabilidad en la respuesta clínica a SbV ha sido un reto persistente en el tratamiento contra *Leishmania* durante los últimos 60 años. La falta de respuesta de los parásitos podría estar relacionada con características intrínsecas de los mismos [47], o con una condición adquirida promovida por la presión de la droga [38], que se traduce en la expresión exacerbada de sistemas de transporte especializados en disminuir la concentración efectiva del compuesto a nivel intracelular.

De hecho, transportadores ABC ubicados en la membrana plasmática o en la membrana de los sistemas vesiculares intracelulares modulan los niveles citoplasmáticos de SbV [48, 49], lo que sugiere que los transportadores ABC son cruciales para mantener un fenotipo quimioresistente. Este hecho se evaluó en el LFM para constatar su utilidad como marcadores de quimioresistencia.

La función de los transportadores ABC en *L. amazonensis*, LTB0016 y su contraparte quimioresistente LTB160 se determinó en promastigotes incubados a concentraciones crecientes de calceína acetoximetilada (CAL-AM). Las pruebas fluorescentes utilizando CAL-AM, compuesto hidrófobo no fluorescente, determinan la acumulación intracelular del compuesto (modificado a nivel del enlace acetoximetilado por esterasas citoplasmáticas no específicas), sustrato de transportadores ABC. La molécula resultante, calceína (CAL), es hidrofílica y altamente fluorescente [50, 51]. El aumento en la fluorescencia se midió en función del tiempo. Los ensayos de calibración y de expresión constitutiva de los transportadores ABC que mobilizan al sustrato neutro CAL-AM, más eficientemente (103x) en LTB160 que en LTB0016, y cómo la quimioresistencia induce la expresión de proteínas ABC que transfieren el sustrato aniónico CAL están disponibles en las publicaciones originales del LFM [36].

Rautio y colaboradores [52] definieron la fortaleza de los inhibidores de transportadores ABC como alta (A, con $IC_{50} < 1 \mu M$), media (M, con $1 \mu M < IC_{50} < 15 \mu M$) y baja (B, con $IC_{50} > 15 \mu M$). Esta escala permite establecer el tipo de transportadores preferencialmente expresado en un tipo celular, al utilizar inhibidores selectivos como ciclosporina-A (P-gp-MDR4) y verapamil (P-gp-MDR1), así como glibenclamida (MRP1). En el LFM se caracterizaron los transportadores ABC expresados en *L. amazonensis* mediante la retención de CAL-AM y CAL y su inhibición por estos sustratos/inhibidores. La **Tabla 2** resume cómo los sistemas de eflujo CAL-AM expresados constitutivamente en *L. amazonensis* tienen velocidades similares a los de *L. major*, *L. mexicana*, *L. (V.) braziliensis*, y *L. guyanensis* [36, 51]. Sugieren que la retención basal de CAL por LTB0016 fue 50 % mayor que por LTB160 ($p < 0,05$). La menor acumulación de CAL-AM y CAL se asocia con mayor expresión de transportadores ABC en *L. amazonensis* (quimioresistente), tal y como se ha descrito en varias especies de *Leishmania* [51, 53]. Dentro del rango de concentración utilizado, ciclosporina-A no incrementó la retención de CAL en *L. amazonensis*, resultado difícil de reconciliar con mecanismos de transporte de drogas a través de transportadores P-gp [54]. Los resultados indican que verapamil es un inhibidor tipo M para ambas especies y glibenclamida un inhibidor tipo M para LTB0016 y B para

Tabla 2. Inhibición de la retención de CAL por Ciclosporina A, Verapamil y Glibenclamida en LTB0016 y LTB160

Inhibidor	Concentración μM para 50 % inhibición de retención de CAL	
	LTB0016	LTB160
Ciclosporina-A	n.d.	n.d.
Verapamil	3,00 \pm 0,80	14,00 \pm 4,00
Glibenclamida	60,00 \pm 26,00	128,00 \pm 36,00

n.d., no detectado, se utilizaron concentraciones hasta 100 μM ciclosporina A. Tomado de [36]. Reproducido con permiso de Elsevier.

LTB160. El verapamil interfiere con sustratos aniónicos transportados por transportadores MRP-1 en otros sistemas incluyendo humanos [55-57], e inhibe los transportadores expresados en *L. amazonensis*, presentados en este trabajo.

Estos resultados demuestran que los sistemas de transporte expresados en *Leishmania* tienen diferentes eficiencias y son sensibles a los inhibidores verapamil y glibenclamida, pero no al inhibidor de P-gp ciclosporina-A y confirman la expresión constitutiva en *Leishmania* spp. de sistemas que transportan compuestos neutros no metabolizados [50, 51] y sistemas MRP-1 que transfieren compuestos aniónicos, así como su regulación por quimioresistencia. Adicionalmente, indican que las estrategias metabólicas utilizadas por *Leishmania* quimioresistente divergen de las descritas para células de mamíferos resistentes a ácidos neutros y orgánicos. Finalmente, sugieren que la evaluación de la acumulación de CAL como ensayo cualitativo de la expresión y/o funcionalidad de los transportadores ABC es sencillo de implementar en el laboratorio de rutina y arroja resultados que permiten clasificarlo como un marcador celular interesante.

Si los resultados descritos resultan ciertos para todas las especies de *Leishmania*, este sería un marcador idóneo para el pronóstico de tratamiento. Adicionalmente sugerirían que la administración simultánea de compuestos terapéuticos con un bloqueador de transportadores ABC, que mantuviese suficientemente altos los niveles citoplasmáticos del medicamento, constituiría una estrategia terapéutica óptima para recuperar la susceptibilidad de *Leishmania* (resistente) a los fármacos. Estudios *in vivo* [59] han demostrado que la administración simultánea del bloqueador de transportadores ABC glibenclamida en combinación con glucantime aumenta la eficacia de este último y disminuye la tasa de infección de ratones BALB/c infectados con *Leishmania*. El secuestro de glucantime en organelos intracelulares mediado por transportadores ABC parece ser el mecanismo por el cual el nivel citoplasmático de la droga disminuye en los parásitos [60]. El bloqueo de estos transportadores ABC mantiene (o aumenta) los niveles terapéuticos citoplasmáticos de

glucantime. En el LFM analizamos la interacción sinérgica entre glucantime y el inhibidor de transportadores ABC, glibenclamida. La administración simultánea de ambos aumentó la eficacia de glucantime en la disminución de la tasa de infección de macrófagos infectados por *Leishmania*. La proporción de fármacos utilizada de forma combinada (3:2), corresponde a la usada en experimentos *in vivo* [59]. Adicionalmente, en experimentos de colocalización donde se exploraron los organelos intracelulares en los cuales se acumula la glibenclamida se demostró que el marcador fluorescente Bodipy-GLIB para glibenclamida, se acumuló en un sistema tubular intracelular que comienza en el extremo anterior de la célula y prosigue a lo largo del parásito; aquí también se acumuló el LysoTracker-rojo, asociado a compartimientos ácidos [61]. El doble marcaje sugiere que el compartimiento donde ambas sondas se acumulan constituiría el mismo donde se almacena glucantime. Datos no mostrados [62].

5.4 Preferencias de sustrato e incorporación de glucosa en parásitos quimioresistentes

En células de mamíferos resistentes a drogas las estrategias metabólicas asociadas a la quimioresistencia incluyen un aumento del transporte y metabolismo de glucosa y un aumento del consumo de oxígeno [63]. Nuestros resultados sugieren que en *Leishmania* las estrategias difieren de las usadas por las células de mamíferos [43, 64].

En el LFM se caracterizó el transporte de glucosa en parásitos quimiosensibles y quimioresistentes. Se utilizó inicialmente NR(Gs) y su contraparte resistente [NR(Gr)]. Posteriormente se confirmaron los resultados en la especie de referencia, LTB0016 y su contraparte resistente, LTB160. El objetivo, estandarizar una metodología para evaluar el consumo de glucosa y comprobar su potencial uso como marcador de resistencia en aislados de pacientes [65].

Los resultados demuestran una mayor incorporación de glucosa y mayor expresión de una banda de 55 KDa, (transportador de glucosa) [64] en *L. mexicana* NR(Gs) vs. NR(Gr). Estos datos podrían explicar el comportamiento del flujo glicolítico en parásitos resistentes durante la fase exponencial de crecimiento y cómo, la diferenciación a fase estacionaria se traduce en una menor incorporación de glucosa y expresión de la banda de 55 KDa. Un metabolismo disminuido de glucosa se ha demostrado en otras especies de *Leishmania* al comienzo de la fase estacionaria [66]. En *Saccharomyces cerevisiae* una permeasa que permite la incorporación de glucosa está involucrada en resistencia pleiotrópica a drogas; su expresión aumenta la susceptibilidad a drogas incluso en especies inicialmente susceptibles [67]. La incorporación de glucosa en NR(Gs) y NR(Gr) es inhibida parcialmente por

citocalasina-B y floretina demostrando que el transporte de glucosa ocurre por difusión facilitada, al igual que en otras especies de *Leishmania* y *Trypanosoma brucei* [68, 69]. Los resultados sugieren la modulación de puntos de control que, dada la flexibilidad metabólica de *Leishmania* explicaría la incorporación diferencial de sustratos dependiendo de la fase de crecimiento, como respuesta fisiológica [30] al reto de la presión de la droga.

En las especies de *L. amazonensis* LTB0016 y LTB160 [36] se constató que sin disminución aparente del crecimiento de los parásitos quimioresistentes (LTB160), aunque si de su velocidad de replicación, hay una menor incorporación de glucosa, y una menor susceptibilidad de los parásitos a antimetabolitos como 2-MA (un inhibidor de la acil-CoA deshidrogenasa) [69] y UL-2-DOG (análogo no metabolizable de la glucosa) [70], manteniendo los caracteres funcionales asociados al fenotipo infeccioso [42, 44, 71]. Estos resultados sugieren un cambio metabólico general asociado a la quimioresistencia en *L. amazonensis* el cual afecta, como en *L. mexicana* mutante para el transportador de glucosa, su capacidad de mantener la infección en el modelo murino [66]. La restitución genética por rescate con el transportador de glucosa LmGT3 restablece la infectividad en *L. mexicana*.

En células de mamíferos, la glibenclamida estimula la acumulación de glucosa [73] y estabiliza los transportadores de glucosa en la membrana plasmática [74]. La exposición de *L. major* o LTB0016 a glibenclamida disminuye dramáticamente la acumulación de glucosa [76] esta resulta 9 veces más lenta en LTB160 que en LTB0016; además, en LTB160 expuesta a glibenclamida es 2 veces más lenta que LTB0016 no expuesta a glibenclamida (Tabla 3). Estos resultados sugieren un mecanismo que difiere de lo que ocurre en mamíferos.

Finalmente, parásitos quimioresistentes en fase estacionaria utilizan mas amino ácidos como sustratos energéticos que parásitos quimiosensibles; expresan actividad aumentada de enzimas como la hexoquinasa, la fosfoglucoasa isomerasa y especialmente la enzima glutamato deshidrogenada (GDH) asociada a NAD⁺ (datos no mostrados) [36, 43]. Estos resultados sugieren que la resistencia a drogas activa el uso de la fosforilación oxidativa, la GDH regulada por NAD⁺ reorienta los metabolitos de los amino ácidos hacia el ciclo de Krebs [75] aunque la producción de ATP es similar en los parásitos sensibles y resistentes a drogas [76].

Estas observaciones implican que en parásitos en fase exponencial de crecimiento las actividades de las enzimas al comienzo de la vía glicolítica no dependen de la velocidad de incorporación de glucosa y por lo tanto no estarían relacionadas con la infectividad de la célula y sugieren que la

presión continua de las drogas induce al parásito a seleccionar vías metabólicas específicas que le permitan compensar los defectos primarios producidos por la presión de la droga; esto implica que en principio la evaluación de estos cambios en las vías metabólicas no servirían como predictores de resistencia a drogas.

A fin de analizar si en aislados de parásitos obtenidos de pacientes infectados existe una correlación entre el éxito de la terapia y la infección con parásitos quimioresistentes y una modulación de la tasa de incorporación de glucosa durante la fase exponencial de crecimiento, y debido a lo engorroso de los métodos aquí explicados, en el LFM se estandarizó una metodología basada en la determinación de glucosa en el sobrenadante del medio de cultivo a un tiempo determinado, mediante el método enzimático de Trinder, ampliamente descrita por Padrón-Nieves y Ponte-Sucre [65]. Posteriormente se presentarán datos obtenidos mediante este método.

5.5 Potencial de membrana

La diferencia en el potencial eléctrico (ΔV_m) a través de la membrana es una característica común de células procariotas y eucariotas. El ΔV_m es consecuencia de flujos iónicos (Na⁺, K⁺, H⁺, Cl⁻...) a través de las membranas, e involucra la acción de diferentes canales, transportadores y bombas [77, 78]. En reposo las células de mamíferos tienen un ΔV_m entre 40 y 90 mV (promedio ~70 mV), siendo el interior negativo con respecto al exterior [79]. Por convención el interior negativo se expresa con un signo menos (-40 a -90 mV). En protistas como *Leishmania*, el ΔV_m depende del metabolismo energético y el ciclo de vida del parásito; varía entre -75 mV en amastigotes [79] y -113 mV en promastigotes. [80] La hiperpolarización ocurre cuando hay un aumento del potencial de membrana (un valor más negativo que el anterior), en la depolarización ocurre lo contrario.

Tabla 3. Cinética del transporte de glucosa en LTB0016 y LTB160 mol x 10⁻¹⁴ x cel⁻¹ x s⁻¹

Especie de <i>Leishmania</i>	Acumulación de *2-DOG		Inhibición de la acumulación de *2-DOG		
	-GLIB	+GLIB	D-glu	L-glu	2-DOG
LTB0016	11,04 [#] ± 2,76	-0,181 ± 0,02	-17,81 ± 3,20	-11,48 ± 0,15	-12,51 ± 1,47
LTB160	1,262 ± 0,26	5,653 ± 1,36	-16,55 ± 0,29	-11,13 ± 0,93	-13,63 ± 0,30

D-glu: D-glucosa

L-glu: L-glucosa

#p = 0,001. Tomado de [36]. Reproducido con permiso de Elsevier. GLIB = glibenclamida. Reproducido con permiso de Elsevier.

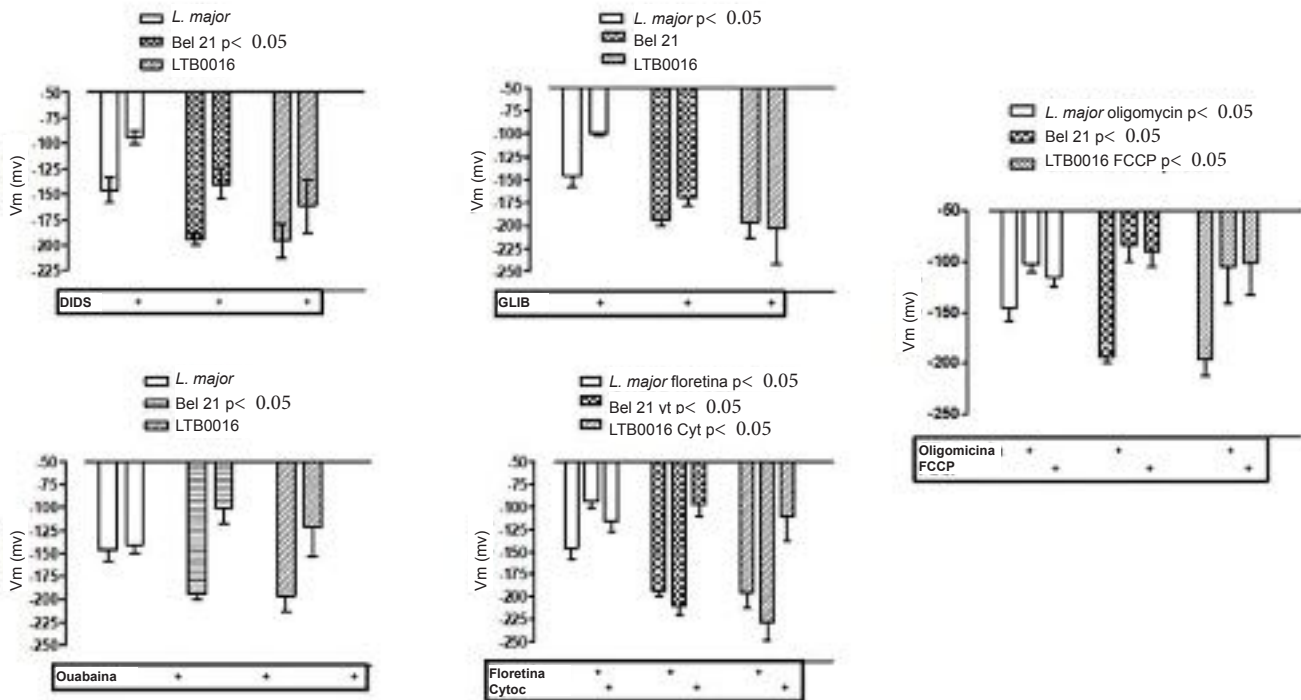


Figura 5. Efecto de DIDS, ouabaina, floretina y citocalasina-B (Cytoc), oligomicina y FCCP sobre el potencial de membrana de especies de referencia, $p < 0,05$ en cada especie o aislado comparando los tratados y los no tratados. Tomado de [87]. Reproducido con permiso de Springer Nature.

El ΔV_m es fundamental para la conformación de la fuerza electromotriz que permite la adquisición de nutrientes, así como para la interacción con el hospedero [77, 80-82]. El ΔV_m podría reflejar el estado metabólico, la homeostasis celular y la integridad física de la membrana y del organismo en estudio. En el LFM se evaluó el ΔV_m con una metodología descrita por Vieira *et al.* [83], optimizada como método no invasivo por Padrón-Nieves y Ponte-Sucre [65]. Esta técnica ha sido utilizada en tripanosomatídeos y *Giardia intestinalis* [79, 84, 85].

Se realizaron curvas de calibración para ΔV_m en cada especie de *Leishmania* en presencia de concentraciones crecientes de KCl (0,25 a 50 mM). Se estableció una correlación lineal entre la fluorescencia de bisoxonol y cada concentración de KCl (datos no mostrados) [65]. El ΔV_m se calculó con la ecuación de Nernst: $-V_m = (-59,4 \text{ mV}) \log\left(\frac{[K]_i}{[K]_o}\right)$, donde K_i es la concentración intracelular de potasio (entre 120 y 200 mM) y K_o es la concentración de KCl añadida.

El efecto de varios compuestos sobre el ΔV_m (ver **Figura 5**) permitió explorar el rol de diversos iones en su generación: el bloqueador del transportador ABC, glibenclamida (GLIB; 100 μM); el inhibidor de la Na^+ , K^+ -ATPasa ouabaina (1 mM); el ionóforo monensina de sodio (1 μM); el inhibidor del canal de cloruro 4,4'-di-isotiocianato-sal de sodio

de 2,2'-disulfonato (DIDS; 500 μM); el bloqueador de incorporación de glucosa floretina (150 μM); el inhibidor del transporte de glucosa citocalasina-B (Cytoc; 300 μM); el inhibidor de la ATPasa mitocondrial oligomicina (20 μM); y el de la fosforilación oxidativa mitocondrial carbonil cianuro 4-trifluorometoxifenilhidrazona (FCCP; 1 μM).

La **Figura 5** ilustra el colapso del ΔV_m de *L. major* (Viejo Mundo) en presencia de glibenclamida; del ΔV_m de Bel 21 en presencia de DIDS y ouabaina, mientras el de LTB0016 no. El ΔV_m de las tres especies de referencia colapsa en presencia de floretina, citocalasina-B, oligomicina y FCCP, datos que sugieren un comportamiento homogéneo de la función mitocondrial y adquisición de nutrientes como glucosa, con diferencias en la permeabilidad iónica a través de la membrana plasmática y su función en la generación del ΔV_m [86, 87].

6. Estudios en pacientes

A fin de validar los resultados encontrados en especies de referencia, en el LFM en un estudio pionero en Venezuela, se evaluaron los parámetros referidos en aislados de pacientes con LCD. Los aislados denominados VE2000MM y VE98MR (*L. amazonensis*), y VE96ZC (*L. mexicana*), fueron identificados mediante métodos moleculares [88]. La **Tabla 4** resume las características de estos aislados de pacientes. Su status actual es de enfermedad activa con tratamiento.

Tabla 4. Características de los aislados de *Leishmania* de pacientes con LTD y fracaso terapéutico contra glucantime

Código internacional	Edad (años)	Procedencia	Diagnóstico	Terapia
VE2000MM <i>L. (L)</i> <i>amazonensis</i>	23	San Fernando de Apure	1990 4/10/1991	Glucantime
VE98MR <i>L. (L)</i> <i>amazonensis</i>	31	Zaraza - Guárico	1985 19/07/1987	Glucantime Inmunoterapia Miltefosina
VE96ZC <i>L. (L)</i> <i>mexicana</i>	18	Biruaca - Apure	1984, 1/7/1986	Glucantime Inmunoterapia

Tomado de [86]. Con permiso de la Facultad de Farmacia, UCV.

Inicialmente se evaluó la susceptibilidad a drogas leishmanicidas de los aislados de pacientes. Seguidamente se determinó su porcentaje de supervivencia a concentraciones máximas de glibenclamida (3X GI50), pentamidina (7X GI50) y anfotericina-B (4X GI50) determinadas de acuerdo al valor correspondiente del GI50 multiplicado por N en μM para cada droga utilizada. Esto permitió utilizar valores cercanos al GI90 para todas las drogas. Este valor se correlacionó con la capacidad de las células de acumular calceína, sustrato de los transportadores ABC, así como con su sensibilidad a los inhibidores específicos de los mismos. Los resultados se compararon con los de las especies de referencia correspondientes. Se incluyó *L. (V.) braziliensis* LTB300 como control negativo.

La susceptibilidad *in vitro* de las especies de referencia a anfotericina-B y pentamidina, y a glibenclamida fue similar a la descrita [89, 90]. Los datos demuestran que los aislados fueron menos susceptibles a anfotericina-B y glibenclamida que sus especies homólogas, el porcentaje de supervivencia fue $\geq 50\%$, a altas concentraciones de las drogas. Con pentamidina, sólo el aislado VE96ZC tuvo un porcentaje de supervivencia $> 50\%$ a altas concentraciones de la droga. Con anfotericina-B sólo VE98MR tuvo un porcentaje de supervivencia $> 50\%$ a altas concentraciones de la droga [36]. Estos resultados sugieren que la susceptibilidad a drogas de promastigotes es un método fácil, rápido y reproducible, más no necesariamente predictivo de fenotipo quimiorresistente. La validación de estos hallazgos en un mayor número de aislados es más que deseable.

Seguidamente y para cuantificar la actividad de los transportadores ABC comparamos la acumulación de calceína y la calceína-acetoximetil ester (CAL-AM), así como su inhibición por compuestos específicos, entre los aislados de pacientes y las especies de referencia. y su modulación por verapamil, ciclosporina-A y glibenclamida [36].

Los resultados obtenidos en especies de referencia de *Leishmania* demuestran que estos sistemas están constitutivamente expresados [36, 50]. Los resultados (Tabla 5) en aislados de pacientes corroboran estos datos y permiten concluir que ciclosporina-A se comporta como un inhibidor tipo B para el aislado VE2000MM y LTB0016 (insensibles a la droga hasta niveles mM); y es un inhibidor tipo M para los aislados VE96ZC y VE98MR.

Al ser ciclosporina-A un inhibidor selectivo de transportadores MDR4, se concluye que estos transportadores deben estar medianamente expresados en VE96ZC y VE98MR (sensibles a la droga entre 1 y 15). Para VE96ZC y VE98MR, el verapamil se comporta como un inhibidor tipo B (insensibles a la droga hasta niveles mM), y como un inhibidor tipo A para el aislado VE2000MM y tipo M para LTB0016. Verapamil inhibe transportadores MRP, pero preferencialmente transportadores MDR. [91] A partir de estos datos se estima que los MRP no están expresados -o no son funcionales- en VE96ZC y VE98MR, mas sí en VE2000M. Verapamil y ciclosporina-A son inhibidores tipo B para Bel21, sugiriendo que esta especie no expresa -o los transportadores no son funcionales- ni MDR1 ni MDR4. Finalmente, acorde con la clasificación presentada, glibenclamida se comporta como un inhibidor tipo A para Bel21, B para LTB0016, y M para los aislados. Estos resultados que sugieren la expresión funcional de transportadores MRP1 en los aislados, susceptibles a concentraciones de glibenclamida entre 1 y 15 μM , mas no así en LTB0016, tal y como había sido demostrado anteriormente [36].

Estos resultados indican que la evaluación de la acumulación de calceína como ensayo cualitativo de la expresión y/o funcionalidad de los transportadores ABC podría ser un marcador celular interesante y hace imperativo la validación de estos hallazgos en mayor número de aislados.

Tabla 5. Concentración efectiva de Verapamil, Ciclosporina-A y Glibenclamida, necesarias para aumentar 50 % la retención de calceína de las especies de referencia y aislados de pacientes

Especie	Verapamil (μM)	Ciclosporina-A (μM)	Glibenclamida (μM)
LTB300	10,90 \pm 8,00	83,40 \pm 4,00	6,76 \pm 4,50
Bel 21	>mM	17,80 \pm 13,00	0,43 \pm 0,26
LTB0016*	3,0 \pm 0,8	>mM	60,00 \pm 26,00
VE2000MM	0,10 \pm 0,08	>mM	5,40 \pm 2,90
VE98MR	>mM	1,20 \pm 7,00	1,80 \pm 0,97
VE96ZC	> mM	1,28 \pm 0,75	2,80 \pm 2,09

Concentración efectiva > mM, concentraciones superiores a mM. * Datos tomados de [36] y [87]. Reproducido con permiso de Elsevier.

La tasa de captación de glucosa por *Leishmania* es un indicador de viabilidad celular, estrechamente asociada con el metabolismo del parásito [67]. Utilizando la metodología estandarizada en el LFM [65] se evaluó el curso temporal de la captación de glucosa en las especies y los aislados descritos [87]. Los resultados están resumidos en la **Tabla 6**.

Los resultados sugieren que las células acumulan glucosa en el siguiente orden: *L. mexicana* (VE96ZC > Bel21) = *L. amazonensis* (VE98MR) > *L. amazonensis* (LTB0016 = VE2000MM) >> *L. major* (*L. major* > PTR). Estos resultados indican que: (1) *L. major*, responsable de LC en el Viejo Mundo, acumula glucosa a una tasa menor que *L. amazonensis* y *L. mexicana*, responsables de DCL en América; (2) en la especie PTR resistente a la pentamidina, la acumulación de glucosa es menor que en su especie de referencia *L. major*; y (3) en parásitos de *L. amazonensis* y *L. mexicana* aislados de pacientes con DCL, la acumulación de glucosa aumenta o permanece en valores similares a los de su cepa de referencia correspondiente.

Tabla 6. Velocidad de incorporación de glucosa en pacientes y especies de referencia mol de glucosa x 10⁻¹²/cel x s.

Especie	Referencia	Velocidad (mol glucosa x 10 ⁻¹² /cel x s)
<i>L. major</i>	<i>L. major</i>	0,19 ± 0,002
	PTR ^a	0,06 ± 0,004
<i>L. mexicana</i>	Bel21 ^b	2,12 ± 0,05
	VE96ZC ^b	3,02 ± 0,04
	LTB0016 ^c	1,23 ± 0,03
<i>L. amazonensis</i>	VE2000MM	0,97 ± 0,5
	VE98MR ^c	2,17 ± 0,06

^{a,b} p < 0,001, ^c p < 0,005. ^d p: sin diferencia significativa Tomado de [87]. Reproducido con permiso de Elsevier.

Las alteraciones en ΔV_m se han asociado con la fisiología de la quimioresistencia en *Saccharomyces cerevisiae* [67]. En el LFM se evaluó el ΔV_m de especies de referencia y aislados. La **Tabla 7** resume estos resultados. Los datos demuestran que el ΔV_m de las especies de referencia y los aislados VE96ZC y VE98MR permanecen en valores cercanos a -200 mV. Sin embargo, el ΔV_m en el aislado VE2000MM se desvía significativamente hacia valores despolarizantes. Esto sugiere una menor energía electromotriz para incorporar nutrientes en VE2000MM que en los otros aislados descritos.

Seguidamente se evaluó la respuesta del ΔV_m de los aislados a los inhibidores que afectan selectivamente canales, conductancias, o transportadores a fin de comparar su comportamiento con el de las especies de referencia. La **Figura 6**, resume los resultados obtenidos con los inhibidores que afectaron a la mayoría de las especies [87].

Tabla 7. Potencial de membrana en aislados y especies de referencia

Especies	ΔV_m [mV] (95 % intervalo de confianza)	Bondad del ajuste (R^2)
<i>L. major</i>	-180 (-196/-169)	0,99
<i>L. major</i> (PTR)	-200 (-219/-186)	0,96
<i>L. mexicana</i> (Bel 21)	-200 (-220/-190)	0,84
VE96ZC	-195 (-240/-168)	0,54
<i>L. amazonensis</i> (LTB0016)	-212 (-230/-198)	0,89
VE2000MM	-170 (-190/-150)	0,73
VE98MR	-190 (-240/-170)	0,54

R^2 = coeficiente de correlación. Tomado de [62]. Reproducido con permiso de Elsevier.

El ΔV_m de *L. major* y PTR, así como de LTB0016 y VE2000MM, fueron insensibles al DIDS; la ouabaina disminuyó significativamente el ΔV_m de Bel21 y VE96ZC y de *L. major* (PTR) resistente a la pentamidina y curiosamente, el bloqueador de transportadores MRP-1 y de canales K+ glibenclamida no afectó el ΔV_m de ningún representante de *L. amazonensis* ni de Bel21 (datos no mostrados). Sin embargo, la inhibición del transporte de glucosa por floretina o citocalasina-B disminuyó significativamente el ΔV_m en todas las células. La mayoría de las especies fueron sensibles a oligomicina y FCCP; LTB0016 y VE98MR solo a FCCP, y VE2000MM insensible a ambos inhibidores. *L. major* fue sensible a la oligomicina (ver **Figura 6**).

En conjunto estos resultados sugieren que la sensibilidad del ΔV_m de *Leishmania* hacia los inhibidores clásicos de los canales iónicos y los transportadores dependen de la especie estudiada. Esta situación complica la comprensión del origen del ΔV_m y pone al descubierto un elemento más de la flexibilidad de estos parásitos y su capacidad de incorporar nutrientes, acorde a la fuerza electromotriz a través de su superficie de membrana. Además, sugieren que aislados de pacientes que sufren DCL, pertenecientes a la misma especie difieren en su comportamiento fisiológico.

En conclusión: (1) el ΔV_m de *L. mexicana* [Bel21 (referencia) y VE96ZC (aislado)] se comportaron de manera similar, además VE96ZC fue sensible al bloqueador de transportadores ABC y canal K + glibenclamida, y al inhibidor del transportador de hexosa floretina; (2) el ΔV_m de *L. amazonensis* [LTB0016 (referencia) y VE98MR (aislado)] se comportaron de manera similar, VE98MR además fue sensible al inhibidor de corrientes aniónicas DIDS; y (3) el ΔV_m de *L. amazonensis* (VE2000MM) fue sensible solo a inhibidores del transportador de glucosa.

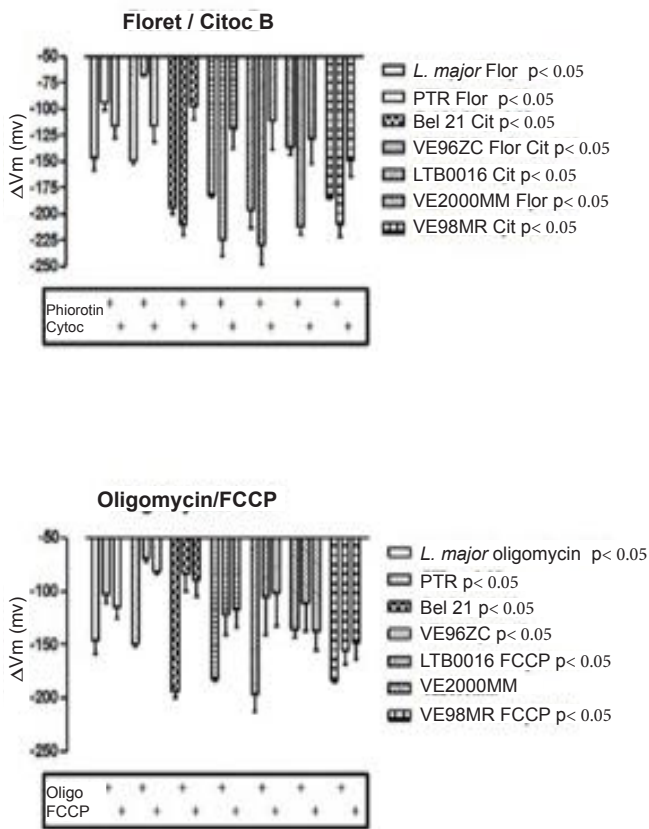


Figura 6. Efecto de floretina y citoclasina B, oligomicina y FCCP en el potencial de membrana. $p < 0,05$ en cada especie de referencia o aislado comparando los tratados y los no tratados. Tomado de [87]. Reproducido con permiso de Springer Nature.

7. Reflexiones finales

Los parásitos de *Leishmania* son exitosos, flexibles, y capaces de implementar múltiples mecanismos de evasión frente al hospedero. Con el fin de examinar la adaptabilidad y flexibilidad de *Leishmania* y sus implicaciones, el LFM ha caracterizado algunas de las consecuencias fisiológicas asociadas a la quimioresistencia en estos parásitos.

Con los estudios realizados, el LFM ha consolidado el concepto de que la quimioresistencia en *Leishmania* incluye, además del aumento de la expresión de fragmentos de ADN genómico, reconocidos por sondas pertenecientes a proteínas de la familia de la glicoproteína-P (transportadores ABC), una alteración de funciones que incluyen entre otros, la infectividad del parásito (fosfatasa ácida y proteína meta-1), el metabolismo intracelular y la fosforilación oxidativa (aminoácidos y carbohidratos fundamentales para la supervivencia del parásito), la interacción hospedero-parásito (aglutinación por lectinas, potencial de membrana), y la morfología del parásito [30, 36, 43, 64, 92-94].

Además, su trabajo analiza si estos eventos fisiológicos se modifican de manera coordinada, y si su análisis y comprensión

sistemáticos pueden ser útiles en el diseño de enfoques quimioterapéuticos a múltiples dianas celulares, identificando así estrategias para eludir la quimioresistencia en *Leishmania* y tratar con éxito la enfermedad.

Los resultados sugieren, tal y como se presenta en la **Figura 7**, que en *L. mexicana* y *L. amazonensis*, aislados de pacientes venezolanos con DCL, podría producirse una modificación de la fisiología del parásito.

En consecuencia, los parásitos expresan una mayor “profesionalidad” con una tasa de consumo de glucosa eficiente y aumentada sin cambios significativos en el potencial de membrana. La evaluación y correlación de ambos marcadores podrían contribuir a una prognosis adecuada de la enfermedad [65]. La validación adicional de los conceptos establecidos debe realizarse en mayor número de muestras y el fenotipo real del aislado VE2000MM debe estudiarse a nivel genético.

En resumen, el Laboratorio de Fisiología Molecular ha contribuido a la par que sus colegas a nivel internacional [95-100] a la comprensión de los mecanismos fisiológicos asociados a la resistencia a drogas y la susceptibilidad a los mismos en los parásitos metabólicamente flexibles *Leishmania* y *Trypanosoma*, mediante la integración del uso de bioquímica, biofísica, biología celular y farmacología. Los trabajos del LFM han sido pioneros en conceptos fundamentales para fomentar el diseño de terapias alternativas contra estos parásitos tropicales y ha contribuido a la educación de muchas generaciones de médicos y estudiantes de postgrado en Venezuela.

Agradecimientos

Diversas instituciones nacionales e internacionales han sido fundamentales en el aporte de los recursos para la

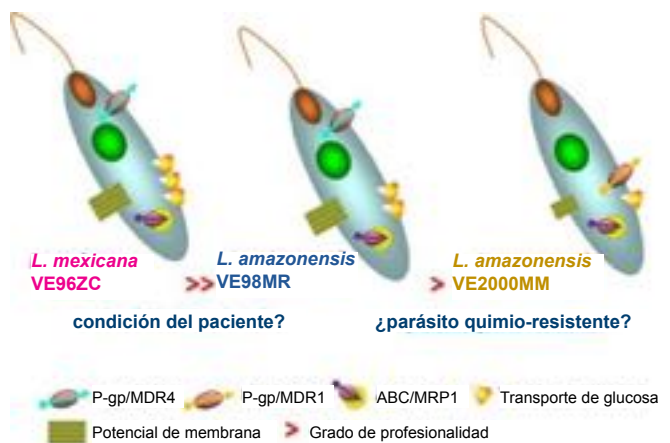


Figura 7. En búsqueda de marcadores con ayuda de la Fisiología. Se presentan de forma esquemática los marcadores identificados en este trabajo. P-gp/MDR4, P-gp/MDR1, ABC/MRP1, transportador de glucosa y potencial de membrana. Las densidades de cada uno de ellos en los diferentes aislados se correlaciona con su grado de profesionalidad que pudiera estar asociado a la expresión de quimioresistencia.

obtención de los resultados que aquí se resumen: El Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (UCV), la Coordinación de Investigación de la Facultad de Medicina de la UCV, el Programa Iberoamericano de Ciencia, Tecnología y Desarrollo (CyTED), la Fundación Alejandro de Humboldt (AvHF)-Alemania, la Oficina Internacional de Intercambio Académico (DAAD)-Alemania, el Consejo Alemán de Investigación (DFG)-Alemania, la Universidad de Würzburg (Uni-Wue)-Alemania, el Instituto de Misiones para Enfermedades Tropicales (Med-Missio)-Würzburg-Alemania, la Academia de Ciencias “Siebold Colegium” (SCIAS)-Uni-Wue-Alemania, Universidad Semmelweis de Budapest, Hungría, y la Universidad de Helsinki en Finlandia. A todos ellos mi agradecimiento por confiar en nuestro trabajo. Agradezco especialmente a los estudiantes y colegas profesores que durante estos años han confiado en nuestro trabajo y han decidido desarrollar sus retos de investigación en el laboratorio. Estudiantes y colegas han sido fuente constante de inspiración. Su apoyo, ideas y trabajo experimental han sido fundamentales en la elaboración de este documento que resume parte del trabajo realizado en estos últimos 25 años, sin ellos no hubiese sido posible.

Referencias

- [1] World Health Organization. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases. *Third Who Report on Neglected Tropical Diseases*, p. 118–26 (2015).
- [2] Savoia, D. Recent updates and perspectives on leishmaniasis. *J. Infect. Dev. Ctries.* **9** (6), 588-596 (2015). doi: 10.3855/jidc.6833.
- [3] Bañuls, A.L., Hide, and M., Prugnolle, F. *Leishmania* and the leishmaniasis: A parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. *Adv. Parasitol.* **64**, 1-109 (2007).
- [4] De Vries, H.J.C., Reedijk, S.H. and Schallig, H.D.F.H. Cutaneous leishmaniasis: recent developments in diagnosis and management. *Am. J. Clin. Dermatol.* **16**(2), 99-109 (2015). doi:10.1007/s40257-015-0114-z.
- [5] Ponte-Sucre, A. Leishmaniasis - the biology of a parasite. En: *Drug Resistance in Leishmania Parasites. Consequences, Molecular Mechanisms, and possible treatments*, Ponte-Sucre, A., Díaz, E. and Padrón-Nieves, M. (Eds.), (Springer-Verlag Wien, 2013), pp. 1–12.
- [6] Reyes Romero, H., Navarro Rojas, P., Ruíz Montufar, *et al.* Leishmaniasis Tegumentaria Americana. En: *Medicina Tropical y Enfermedades del Viajero*, Reyes Romero, H., Navarro Rojas, P. y Reyes Barrios, H. (Eds.), (CDCH-UCV, Caracas, 2011), pp. 441–481.
- [7] Zerpa, O., Padrón-Nieves, M. and Ponte-Sucre, A. American tegumentary leishmaniasis. En: *Drug Resistance in Leishmania Parasites. Consequences, Molecular Mechanisms, and possible treatments*, Ponte-Sucre, A. and Padrón-Nieves, M. (Eds.), (Springer-Verlag Wien, 2018), pp. 177–191.
- [8] Strazzulla, A., Cocuzza, S., Pinzone, M.R., *et al.* Mucosal leishmaniasis: An underestimated presentation of a neglected disease. *Biomed. Res. Int.* **2013**, 805108 (2013). doi: 10.1155/2013/805108
- [9] Lindoso, J.A.L., Lima, A.C.S., Cunha, M.A., *et al.* Diagnosing neglected tropical diseases in HIV coinfection. *Hum. Parasit. Dis.* **7**, 11–18 (2015). doi: 10.4137/HPD.S19569
- [10] Cota, G.F., de Sousa, M.R., Demarqui, F.N., *et al.* The diagnostic accuracy of serologic and molecular methods for detecting visceral leishmaniasis in HIV infected patients: Meta-analysis. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* **6**(5), e1665 (2012). doi: 10.1371/journal.pntd.0001665.
- [11] Feliciangeli, M.D. Leishmaniasis en Venezuela: Situación actual, acciones y perspectivas para el control vectorial en el marco de un programa de control multisectorial. *Bol. Malariaol. y Salud Ambient.* **LIV**, 1–7 (2014).
- [12] Guevara, J.R. MPPS. Estadísticas de Leishmaniasis Visceral en Venezuela Histórico / Año 1990-2018 Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina “Dr. Jacinto Convit” (2018).
- [13] Zerpa, O., Ulrich, M., Borges, R., *et al.* Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Venezuela. *Rev. Panam. Salud. Pública* **13**, 239–245 (2003).
- [14] Rodríguez, N.M., De Guglielmo, Z., Barrios, M.A., *et al.* Nueva Esparta Genetic homogeneity within *Leishmania (L.) infantum* isolated from human and dogs: the relationship with the sandfly fauna distribution in endemic areas of Nueva Esparta State, Venezuela. *Parasitol.* **130**, 611-619 (2005).
- [15] Guevara, J.R. MPPS Estadísticas De Leishmaniasis Cutánea En Venezuela Histórico / Año 1990-2018 Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina “Dr. Jacinto Convit” 2018.
- [16] De Lima, H., Borges, R.H., Escobar, J., *et al.* Leishmaniasis cutánea americana en Venezuela: un análisis clínico epidemiológico a nivel nacional y por entidad federal, 1988-2007. *Bol. Malariaol. y Salud Ambient.* **50**, 283–299 (2010).
- [17] Organización Panamericana de la Salud. Leishmaniasis en las Américas: recomendaciones para el tratamiento. OPS series (2013), pp.1–43.

- [18] Natera, S., Machuca, C., Padrón-Nieves, M., *et al.* *Leishmania* spp.: proficiency of drug-resistant parasites. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **29**, 637-642 (2007).
- [19] William, S., Sabra, A., Ramzy, F., *et al.* Stability and reproductive fitness of *Schistosoma mansoni* isolates with decreased sensitivity to praziquantel. *Int. J. Parasitol.* **31**, 1093–1100 (2001).
- [20] Peyron, F., Eudes, N., de Monbrison, F., *et al.* Fitness of *Toxoplasma gondii* is not related to DHFR single-nucleotide polymorphism during congenital toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol.* **34**, 1169–1175 (2004).
- [21] Hastings, I.M. and Donnelly, M.J. The impact of antimalarial drug resistance mutations on parasite fitness, and its implications for the evolution of resistance. *Drug Resist. Update* **8**, 43–50 (2005).
- [22] Beverley, S.M. Genetic and genomic approaches to the analysis of *Leishmania* virulence. En: *Molecular and Medical Parasitology*, Marr, J., Nilsen, T., Komunacki, R. (eds), (Elsevier, Amsterdam, 2003), pp. 111-122.
- [23] Uliana, S.R.B., Goyal, N., Freymuller, E., *et al.* *Leishmania*: overexpression and comparative structural analysis of the stage-regulated meta-1 gene. *Exp. Parasitol.* **92**, 183-191 (1999).
- [24] Debrabant, A. and Nakhasi, H. Programmed cell death in trypanosomatids: is it an altruistic mechanism for survival of the fittest? *Kinetoplastid Biol. Dis.* **2**, 7 (2003).
- [25] Padrón Nieves, M., Alcázar, W. and Ponte-Sucre, A. Adaptabilidad y Fracaso Terapéutico en *Leishmania*. *Dermatol. Venez.* **54**(2), 9-16 (2016).
- [26] Vanaerschot, M., Dumetz F, Jara M, *et al.* The concept of fitness in *Leishmania*. En: *Drug resistance in Leishmania parasites. Consequences, molecular mechanism and possible treatments.* Ponte-Sucre, A. and Padrón-Nieves, M. (Eds.), (Springer-Verlag Wien, 2018) pp. 341-67.
- [27] Padrón-Nieves, M. and Ponte-Sucre, A. Marcadores de resistencia en *Leishmania*: Susceptibilidad in vitro a drogas leishmanicidas vs. retención de calceína en aislados de pacientes venezolanos con Leishmaniasis Cutánea Difusa. *Arch. Venez. Farmacol. Terap.* **34**, 29-33 (2015).
- [28] Vanaerschot, M., Dumetz, F., Roy, S., *et al.* Treatment failure in leishmaniasis: drug-resistance or another (epi-) phenotype? *Exp. Rev. Anti. Infec. Ther.* **12**(8), 937-946 (2014).
- [29] Padrón-Nieves, M., Díaz, E., Romero, A., *et al.* Valor pronóstico de los cambios fisiológicos asociados a la quimioresistencia en *Leishmania*. *Vitae, Academia Biomédica Digital* **33** (2008).
- [30] Ponte-Sucre, A. Physiological consequences of drug resistance in *Leishmania* and their relevance for chemotherapy. *Kinetoplastid Biol. Dis.* **2**, 14 (2003).
- [31] Croft, S.L., Sundar, S. and Fairlamb, A.H. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin. Microbiol. Rev.* **19**, 111–126 (2006).
- [32] Ouellette, M., Fase-Fowler, F and Borst, P. The amplified H circle of methotrexate-resistant *Leishmania tarentolae* contains a novel P-glycoprotein gene. *EMBO J.* **9**(4), 1027–1033 (1990).
- [33] Hendrickson, N., Sifri, C.D., Henderson, D.M., *et al.* Molecular characterization of the *ldmdr1* multidrug resistance gene from *Leishmania donovani*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **60**, 53–64 (1993).
- [34] Mbongo, N., Loiseau, P.M., Lawrence, F., *et al.* Uptake into *Leishmania donovani* promastigotes and antileishmanial action of an organometallic complex derived from pentamidine. *Arzneimittelforschung* **48**(8), 850-851 (1998).
- [35] Basselin, M., and Robert-Gero, M. Alterations in membrane fluidity, lipid metabolism, mitochondrial activity and lipophosphoglycan expression in pentamidine-resistant *Leishmania*. *Parasitol. Res.* **60**, 78–83 (1998).
- [36] Machuca, C., Rodríguez, A., Herrera, M., *et al.* Metabolic adaptations induced by resistance to glibenclamide in *Leishmania amazonensis*. *Exp. Parasitol.* **114**, 1–9 (2006).
- [37] Halder, A.K., Sen, P. and Roy, S. Use of antimony in the treatment of leishmaniasis: current status and future directions. *Mol. Biol. International* **2011**, 1–23 (2011).
- [38] Król, S.K., Kielbus, M., Rivero-Müller, A., *et al.* Comprehensive review on betulin as a potent anticancer agent. *Biomed. Res. Int.* **2015**, 1–11 (2015). <http://dx.doi.org/10.1155/2015/584189>
- [39] Ponte-Sucre, A., Campos, Y., Fernández, M., *et al.* *Leishmania* sp.: growth and survival of *Leishmania* sp. are impaired by ion channel blockers. *Exper. Parasitol.* **88**, 11–19 (1988).
- [40] Ouakad, M., Vanaerschot, M., Rijal, S., *et al.* Increased metacyclogenesis of antimony-resistant *Leishmania donovani* clinical lines. *Parasitol.* **138**(11), 1392-1399 (2011). doi: 10.1017/S0031182011001120.
- [41] Silva, N. and Ponte-Sucre, A. ABC proteins in *Leishmania mexicana*: Modulation of parasite host cell interaction. *Arch. Venez. Farmacol. Terap.* **20**, 134-138 (2001).
- [42] Silva, N., Camacho, N., Figarella, K., *et al.* Cell differentiation and infectivity of *Leishmania mexicana* are inhibited in an ABC-transporter blocker resistant strain. *Parasitol.* **128**, 629-634 (2004).

- [43] Uzcátegui, N.L., Figarella, K., Camacho, N., *et al.* Substrate preferences and glucose uptake in glibenclamide-resistant *Leishmania* parasites. *Comp. Biochem. Physiol.* **140**, 395–402 (2005).
- [44] Bandyopadhyay, P., Ghosh, D.K., De, A., *et al.* Metacyclogenesis of *Leishmania* spp: species-specific *in vitro* transformation, complement resistance, and cell surface carbohydrate and protein profiles. *J. Parasitol.* **77**, 411–416 (1991).
- [45] Nourbakhsh, F., Uliana, S.R. and Smith, D.F. Characterization and expression of a stage-regulated gene of *Leishmania major*. *Molec Biochem Parasitol.* **76**, 201–213 (1996).
- [46] Berberich, C., Marin, M., Ramírez, J.R., *et al.* The metacyclic stage-expressed Meta-1 gene is conserved between Old and New World *Leishmania* species. *Memor. Inst. Oswaldo Cruz* **93**, 819–821 (1998).
- [47] Laurent, T., Rijal, S., Yardley, V., *et al.* Epidemiological dynamics of antimonial resistance in *Leishmania donovani*: genotyping reveals a polyclonal population structure among naturally-resistant clinical isolates from Nepal. *Infect. Genet. Evolution* **7**, 206–212 (2007).
- [48] Ouellette, M., Légaré, D., Haimeur, A., *et al.* ABC transporters in *Leishmania* and their role in drug resistance. *Drug Resist. Update* **1**, 43–48 (1998).
- [49] Singh, N. Drug resistance mechanisms in clinical isolates of *Leishmania donovani*. *Indian J. Med. Res.* **123**, 411–422 (2006).
- [50] Essodaïgui, M., Broxterman, H., and Garnier-Suillerot, A. Kinetic analysis of calcein and calcein acetoxymethyl ester efflux mediated by the multidrug resistance protein and p-glycoprotein. *Biochem.* **37**, 2243–2250 (1998).
- [51] Essodaïgui, M., Freezard, F., Moreira, E.S.A., *et al.* Energy dependent efflux from *Leishmania* promastigotes of substrates of the mammalian multidrug resistance pumps. *Molec. Biochem. Parasitol.* **100**, 73–84 (1998).
- [52] Rautio, J., Humpreys, J., Webster, L., *et al.* *In vitro* P-glycoprotein inhibition assays for assessment of clinical drug interaction potential of new drug candidates: A recommendation for probe substrates. *Drug Metab and Disp.* **34**, 786–792 (2006).
- [53] Dodge, M.A., Waller, R.F., Chow, L.M., *et al.* Localization and activity of multidrug resistance protein 1 in the secretory pathway of *Leishmania* parasites. *Mol Microbiol.* **51**, 1563–1575 (2004).
- [54] Jones, P.M. and George, A.M. Multidrug resistance in parasites: ABC transporters, P-glycoproteins and molecular modelling. *Int. J. Parasitol.* **35**, 555–566 (2005).
- [55] Loe, D.W., Deeley, R.G. and Cole, S.P. Verapamil stimulates glutathione transport by the 190-kDa multidrug resistance protein 1 (MRP1). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **293**, 530–538 (2000).
- [56] Forestier, C., Frangne, N., Eggmann, T., *et al.* Differential sensitivity of plant and yeast MRP (ABCC)-mediated organic anion transport processes towards sulfonylureas. *FEBS Lett.* **554**, 23–29 (2003).
- [57] Salerno, M., Loechariyaku, P., Saengkhae, C., *et al.* Relation between the ability of some compounds to modulate the MRP1-mediated efflux of glutathione and to inhibit the MRP1-mediated efflux of daunorubicin. *Biochem. Pharmacol.* **68**, 2159–2165 (2004).
- [58] Loo, T.W. and Clarke, D.M. Defining the drug-binding site in the human multidrug resistance P-glycoprotein using a methanethiosulfonate analog of verapamil, MTS-verapamil. *J. Biol. Chem.* **276**, 14972–14979 (2001).
- [59] Serrano-Martin X., Payares G., and Mendoza-León A. Glibenclamide, a blocker of K⁺(ATP) channels, shows antileishmanial activity in experimental murine cutaneous leishmaniasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 4214–4216 (2006).
- [60] El Fadili, K., Messier, N., Leprohon, P., *et al.* Role of the ABC transporter MRPA (PGPA) in antimony resistance in *Leishmania infantum* axenic and intracellular amastigotes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 1988–1993 (2005).
- [61] Chazotte, B. Labeling Lysosomes in Live Cells with LysoTracker. *Cold Spring Harb Protoc* (2011). doi:10.1101/pdb.prot5571
- [62] Padrón-Nieves, M., Díaz, E., Machuca, C., *et al.* Glibenclamide modulates glucantime activity and disposition in *Leishmania major*. *Exper. Parasitol.* **121**, 331–337 (2009).
- [63] Harper, M.E., Antoniou, A., Villalobos-Menuy, E., *et al.* Characterization of a novel metabolic strategy used by drug-resistant tumor cells. *Faseb J.* **16**, 1550–1557 (2002).
- [64] García, N., Figarella, K., Mendoza-León, A., *et al.* Changes in the infectivity, pyruvate kinase and acid phosphatase activity and p-glycoprotein expression in glibenclamide resistant *Leishmania mexicana*. *Parasitol. Res.* **86**, 899–904 (2000).
- [65] Padrón-Nieves, M. and Ponte-Sucre, A. Cellular Markers for the Identification of Chemo-Resistant Isolates in *Leishmania*. En: *Protocols Methods, Trypanosomatids.*, Michels,

- P., Ginger, and M., Zilberstein, D. (Eds.) (Springer-Verlag, Heidelberg, 2020) ch. 46. doi: 10.1007/978-1-0716-0294-2_44. PMID: 32221953.
- [66] Blum, J. Energy metabolism in *Leishmania*. *J. Bioenerg. Biomemb.* **26**, 147–154 (1994).
- [67] Nourani, A., Wesolowski-Loucel, M., *et al.* Multiple-drug resistance phenomenon in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: involvement of two hexose transporters. *Mol. Cell Biol.* **17**, 5453–5460 (1997).
- [68] Seyfang, A. and Duszenko, M. Specificity of glucose transport in *Trypanosoma brucei*. Effective inhibition by phloretin and cytochalasin B. *Eur. J. Biochem.* **202**, 191–196 (1991).
- [69] Bauché, F., Sabourault, D., Nordmann, J., *et al.* 2-Mercaptoacetate administration depresses the β -oxidation pathway through an inhibition of long-chain acyl CoA dehydrogenase activity. *Biochem. J.* **196**, 803–807 (1981).
- [70] Brown, J. Effects of 2-deoxyglucose on carbohydrate metabolism: review of the literature and studies in the rat. *Metabolism* **11**, 1098–1112 (1962).
- [71] Gazola, K.C., Ferreira, A.V., Anacleto, C., *et al.* Cell surface carbohydrates and in vivo infectivity of glucantime sensitive and resistant *Leishmania (viannia) guyanensis* cell lines. *Parasitol. Res.* **87**, 935–940 (2001).
- [72] Burchmore, R.J.S., Rodríguez-Contreras, D., McBride, K., *et al.* Genetic characterization of glucose transporter function in *Leishmania mexicana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **100**, 3901–3906 (2003).
- [73] Farese, R.V., Ishizuka, T., Standaert, M.L., *et al.* Sulfonylureas activate glucose transport and protein kinase C in rat adipocytes. *Metabolism* **40**, 196–200 (1991).
- [74] Tsiani, E., Ramlal, T., Leiter, L.A., *et al.* Stimulation of glucose uptake and increased plasma membrane content of glucose transporters in L6 skeletal muscle cells by the sulfonylureas gliclazide and glyburide. *Endocrinol.* **136**(6), 2505–2512 (1995).
- [75] Urbina, J. Intermediary metabolism of *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol. Today* **10**, 107–110 (1994).
- [76] Singh, A.K. and Lee, S.T. Status of respiration and ATP content in arsenite resistant *Leishmania mexicana amazonensis*. *Microb. Pathog.* **26**, 171–174 (1999).
- [77] Konings, W., Albers, S-V., Koning, S., *et al.* The cell membrane plays a crucial role in survival of bacteria and archaea in extreme environments. *Antonie Van Leeuwenhoek* **81**(1-4), 61–72 (2002).
- [78] Nolan, D.P. and Voorheis, H.P. Factors that determine the plasma-membrane potential in bloodstream forms of *Trypanosoma brucei*. *Eur. J. Biochem.* **267**, 4615–4623 (2000).
- [79] Glaser, T.A., Utz, G.L. and Mukkada, A.J. The plasma membrane electrical gradient (membrane potential) in *Leishmania donovani* promastigotes and amastigotes. *Mol. Biochem. Parasitol.* **51**, 9–15 (1992).
- [80] Zilberstein, D. and Dwyer, D.M. Protonmotive force-driven active transport of D-glucose and L-proline in the protozoan parasite *Leishmania donovani*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **82**, 1716–1720 (1985).
- [81] Zilberstein, D. and Dwyer, D.M. Identification of a surface membrane proton-translocating ATPase in promastigotes of the parasitic protozoan *Leishmania donovani*. *Biochem. J.* **256**, 13–21 (1988).
- [82] Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., *et al.* Electrical signals of nerve cells. En: *Neuroscience*, Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W., La Mantia, A., McNamara, J and, Williams, S.M. (Eds) (Sinauer Associates, Oxford, 2001) pp. 31–46.
- [83] Vieira, L., Slotki, I. and Cabantchik, Z.I. Chloride conductive pathways which support electrogenic H^+ pumping by *Leishmania major* promastigotes. *J. Biol. Chem.* **270**, 5299–5304 (1995).
- [84] Van Der Heyden, N. and Docampo, R. Proton and sodium pumps regulate the plasma membrane potential of different stages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **120**, 127–139 (2002).
- [85] Biagini, G.A., Lloyd, D., Kirk, K., *et al.* The membrane potential of *Giardia intestinalis*. *FEMS Microbiol. Lett.* **192**, 153–157 (2000).
- [86] Padrón-Nieves, M. Evaluación del transporte de glucosa, fármacos y del potencial de membrana como métodos pronósticos de quimioterapia en *Leishmania* spp. Tesis doctoral en Ciencias Mención Farmacología, Universidad Central de Venezuela, 2011.
- [87] Padrón-Nieves, M., Diaz, E., Machuca, C., *et al.* Correlation between glucose uptake and membrane potential in *Leishmania* parasites isolated from DCL-patients with therapeutic failure: A proof of concept. *Parasitol. Res.* **113**(6), 2121–2128 (2014).
- [88] Rodríguez, N., Guzman, B., Rodas, A., *et al.* Diagnosis of cutaneous leishmaniasis and species discrimination of parasites by PCR and hybridization. *J. Clin. Microbiol.* **32**(9), 2246–2252 (1994).

- [89] Lunardi, F., Guzela, M., Rodrigues, A.T., *et al.* Trypanocidal and leishmanicidal properties of substitution-containing chalcones. *Antimicrob Agents Chemother.* **47**, 1449-1451 (2003).
- [90] Lima, N.M.F., Correia, C.S., León, L.L., *et al.* Antileishmanial activity of lapachol analogues. *Mem. Inst. Osw. Cruz* **99**, 757-761 (2004).
- [91] Choi, Y.H. and Yu, A.M. ABC transporters in multidrug resistance and pharmacokinetics, and strategies for drug development. *Curr. Pharm. Des.* **20**(5), 793-807 (2014).
- [92] Silva, N. and Ponte-Sucre, A. ABC proteins in *Leishmania mexicana*: Modulation of parasite host cell interaction. *Arch. Venez. Farmacol. Terap.* **20**, 134-138 (2001).
- [93] Figarella, K., Uzcátegui, N., García, N., *et al.* Molecular pharmacology of chemo-resistant *Leishmania*. *Arch. Venez. Farmacol. Terap.* **22**, 19-24 (2003).
- [94] Silva, N., Camacho, N., Figarella, K., *et al.* Cell differentiation and infectivity of *Leishmania mexicana* are inhibited in an ABC-transporter blocker resistant strain. *Parasitol.* **128**, 629-634 (2004).
- [95]. Dujardin, J.C. Structure, dynamics and function of *Leishmania* genome: resolving the puzzle of infection, genetics and evolution? *Infect. Genet. Evol.* **9**, 290-297 (2009).
- [96] Mukhopadhyay, R., Mukherjee, S., Mukherjee, B., *et al.* Characterization of antimony-resistant *Leishmania donovani* isolates: Biochemical and biophysical studies and interaction with host cells. *Int. J. Parasitol.* **41**, 1311-1321 (2011).
- [97] Scheltema, R.A., Decuyper, S., T'kindt, R., *et al.* The potential of metabolomics for *Leishmania* research in the post-genomics era. *Parasitol.* **137**, 1291-1302 (2010).
- [98] Berg, M., García-Hernández, R., Cuypers, B., *et al.* Experimental resistance to drug combinations in *Leishmania donovani*: metabolic and phenotypic adaptations. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**(4), 2242-2255 (2015). doi: 10.1128/AAC.04231-14.
- [99] Ait-Oudhia, K., Gazanion, E., *et al.* The fitness of antimony-resistant *Leishmania* parasites: lessons from the field. *Trends Parasitol.* **27**, 141-142 (2011).
- [100] Hendrickx, S., Leemans, A., Mondelaers, A., *et al.* Comparative Fitness of a Parent *Leishmania donovani* Clinical Isolate and Its Experimentally Derived Paromomycin-Resistant Strain. *PLoS One* **10**, e0140139 (2015). doi: 10.1371/journal.pone.0140139. eCollection 2015.

FORO: CORONAVIRUS, ORIGEN, IMPACTO Y PREVENCIÓN

Relatoría

El pasado martes 11 de febrero, 2020, se celebró el primer foro público sobre Covid-19, auspiciado por la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales, celebrado en la Sala Cabrujas que fue gentilmente facilitada por la Alcaldía de Chacao. Este evento inició el camino para la celebración de muchas otras reuniones públicas en torno a lo que ya se perfilaba como la grave pandemia que afecta a la población y la cual todavía no hemos superado. Este foro, que contó con una numerosa asistencia de vecinos de la Parroquia Chacao y de otras zonas de la capital, tuvo por objeto ilustrar con frases sencillas, a veces aderezadas con expresiones coloquiales, a una población que estaba ávida de conocer la realidad a que nos estábamos enfrentando. Por ello fue importante contar con expositores expertos quienes pondrían al Covid-19 sobre el tapete con toda la seriedad y precisión posible de la que son capaces aquellos que conocen el fondo científico del tema. Sus intervenciones promovieron la concurrencia del público con un sinnúmero de preguntas y discusiones. El foro contó con la participación de los Drs. Flor Pujol, Julio Castro y Huniades Urbina, la coordinación de la Dra. María Eugenia Grillet y la relatoría de la Dra. Alicia Ponte Sucre, que a continuación aquí se transcribe.

Origen del 2019nCoV

Dra. Flor Pujol

Virólogo, Investigador del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas; Individuo de Número, Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales

Los coronavirus son una familia de virus descubierto en la década de los 60. Se denominan así por el aspecto de corona que los decoran. Sus tipos provocan dolencias respiratorias que inicialmente se consideraban “leves” por afectar el tracto superior del sistema respiratorio. El SARS (2003), MERS (2012) y 2019nCoV (2019- 2020) son más infectivos y afectan también el tracto respiratorio inferior. Las infecciones por coronavirus en seres humanos con frecuencia causan síntomas de resfriado común.

El 31 de diciembre de 2019 se notificaron los primeros casos de 2019-nCoV en la ciudad de Wuhan (China). Desde el 30 de diciembre el goteo de nuevos infectados ha sido continuo. A la fecha se contabilizan 43.000 casos con aproximadamente

1.000 fallecidos ($\approx 2,5$ % de los infectados) y se ha confirmado que este coronavirus se transmite no sólo de los animales a las personas, sino de humano a humano (se han detectado casos de infección de cuarta generación y de personal de los hospitales).

Los coronavirus son virus de ARN de polaridad positiva. Presentan alta tasa de mutación y recombinación, que resultan en quimeras que pueden adquirir la capacidad de saltar entre especies e infectar humanos. El 2019-nCoV ha llegado a humanos con un solo salto de especie, muy posiblemente desde murciélago, aunque se sugiere que el pangolín (animal en el que se ha descrito un virus muy similar al que circula en humanos) podría ser el intermediario. Los síntomas aparecen a los ≈ 14 días de incubación; durante ese período, aunque la persona es asintomática puede transmitir la enfermedad, dificultando la contención de la misma.

Las muestras de 2019-nCoV aisladas de diversos pacientes mantienen una identidad de secuencia muy similar entre sí y presentan una secuencia genética que coincide con la del SARS en un ≈ 80 %. No obstante, parece menos virulento y con una mortalidad significativamente inferior. De hecho, su severidad es mucho menor a la reportada para sus predecesores del 2003 (SARS, 10 % de muertes, intermediario las civetas, reservorio el murciélago, erradicado) y 2012 (MERS 30-40 % de muertes, zoonosis clásica, intermediarios los dromedarios, reservorio el murciélago).

Debido a que no existen medidas terapéuticas eficaces, las medidas de prevención son las más importantes para lograr la contención de la enfermedad.

Impacto del 2019nCoV

Dr. Julio Castro

Médico internista, Profesor Instituto de Medicina Tropical, UCV

Para poder describir el impacto de esta enfermedad es necesario comprender la época en la que vivimos y cómo las tecnologías de comunicación constituyen herramientas que pueden colaborar o entorpecer el desarrollo de los acontecimientos. Con esto se ilustra cómo el uso de las redes sociales, especialmente twitter, son herramientas cruciales para, en tiempo real, conocer el número de casos totales y nuevos cada día y el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, la distribución de información errada ha elevado el nivel de

angustia de la población por encima de lo necesario. Debido a ello es imprescindible manejar (1) cuentas de fuentes confiables, (2) sentido común, y principalmente (3) darle la dimensión correcta a esta situación de salud a nivel mundial.

A estas alturas es muy difícil predecir cuál será la evolución de la enfermedad y debemos manejar al menos tres escenarios:

1. Que la enfermedad siga su curso natural y caiga al cabo de cierto tiempo, constituyendo lo que se denomina un epifenómeno
2. Que la enfermedad se mantenga estable, constituyendo una endemia
3. Que la enfermedad se expanda, y constituya una eventual pandemia.

La intervención temprana, acorde a protocolos y acciones concretas podría ayudar a que la contención de la enfermedad sea más contundente.

Por otra parte, es necesario internalizar que estamos en presencia de una zoonosis, en la cual los humanos somos hospederos accidentales. Como la vida de los humanos y la de los animales está estrechamente imbricada las zoonosis son muy difíciles de eliminar, mas si de prevenir y contener, si la población y los Estados están preparados para ello.

Lo que sí es cierto es que, a mayor período de incubación, mayor posibilidad de transmisión y más cercana la posibilidad de una pandemia, lo cual parece ser el caso.

Es por ello que la comunidad científica se ha abocado a recabar y producir información rápidamente para hacerla pública (ciencia abierta) y ponerla a la disposición de expertos en diversas latitudes, con la finalidad de constituir una base de datos común que permita el trabajo en red a fin de comprender el alcance real de la enfermedad y la forma de contenerla y contrarrestarla. De hecho, en los momentos actuales, la cinética de crecimiento de casos es similar dentro y fuera de China, lo cual nos habla de que es posible que estemos hablando de una epidemia de duración posible de más de un año.

La infrecuencia de vuelos a Venezuela dificulta la llegada del virus al país. Sin embargo, mantenerse informados es fundamental. Se recomienda (1) conocer los nuevos casos diarios, dentro y fuera de China, (2) entender cuáles son las normas de prevención que se deben usar e implementarlas, (3) estar conscientes de que la situación de Venezuela es precaria con relación a que somos un país débil en cuanto a nuestra capacidad de respuesta.

Prevención del 2019nCoV

Dr. Huniades Urbina

Pediatra e intensivista, Hospital de Niños, Academia Nacional de Medicina

La OMS ejerce vigilancia constante sobre la evolución del número de casos de 2019-nCoV. Es obligatorio que cada Estado informe de la cinética de la enfermedad. Las recomendaciones surgirán, dependiendo de cómo progrese en el tiempo el número de nuevos casos y cómo se propague a otros países. Las autoridades sanitarias de cada país deben seguir las recomendaciones de los organismos internacionales y sensibilizar a los profesionales de la salud sobre esta nueva enfermedad.

Hasta la fecha no se dispone de vacuna alguna ni de tratamiento específico para combatir la infección por 2019-nCoV. La higiene básica es la forma más eficaz de evitar contraer este virus en los lugares en los que existe un mayor riesgo de transmisión, fundamentalmente las zonas del planeta en las que se han registrado casos.

Las precauciones pueden dividirse en aquellas dirigidas a los enfermos (denominadas estándar), y las dirigidas a las personas sanas (denominadas de contacto y de transmisión de gotas).

Así, si tiene fiebre o síntomas respiratorios luego de un viaje (hasta 14 días después), busque ayuda y use máscara hasta ir a su médico de confianza. Además, como los síntomas son muy similares a los de la influenza no subestime la sintomatología para poder diagnosticar a los sospechosos entre los viajeros. Mantenga sus vacunas al día.

Por otra parte, las medidas de prevención incluyen: lavarse las manos con frecuencia (enjabonarse al menos durante 20 sec), usar alcohol o mezclas desinfectantes si no puede lavarse las manos. Evitar el contacto con personas con tos y/o fiebre o con personas con síntomas de resfriado (protegiendo especialmente ojos, nariz y boca), evite contacto muy cercano con animales. No consumir derivados de animales crudos (leche no pasteurizada, carnes y órganos). Evitar grandes concentraciones de personas en espacios públicos (transporte, teatros, cines, centros comerciales, oficina, centros educativos, restaurantes). Si es inevitable estar en esos lugares, evitar tocar los pasamanos, los pomos de las puertas, o llevarse las manos a la nariz o la boca.

A quienes puedan estar en contacto con posibles afectados se les aconseja el uso de mascarillas como medida física para evitar la llegada de gotas y disminuir la posibilidad de contagio (para el personal de salud las N95 o FFP2). Usar pañuelos para cubrirse la nariz y la boca cuando tose o estornuda. Si estornuda o tose usar su codo para taparse nariz y boca a fin de no dispersar las gotas, lávese de inmediato las manos. En los hospitales practicar desinfección adecuada de espacios y superficies (hipoclorito de sodio y desinfectantes). En los aeropuertos efectuar control de ingreso, incluyendo el autoreporte y el control de temperatura.

De nuevo, es importante en todas estas situaciones usar el sentido común y darle la dimensión apropiada a la situación que experimentamos.

Finalmente adjuntamos las recomendaciones de la Sociedad Venezolana de Salud Pública.

- Cumplir las labores de vigilancia epidemiológica recomendadas por las autoridades sanitarias internacionales como la OPS y la OMS.
- Dotar a los hospitales de los insumos necesarios para la atención de posibles casos.
- Dado el intenso intercambio comercial de Venezuela con China, es recomendable establecer medidas de vigilancia en los aeropuertos y puertos en ciudadanos que provengan de China o de países afectados por la enfermedad.
- Informar y sensibilizar a los profesionales de la salud acerca del 2019-nCoV. Trabajar en conjunto con las instituciones académicas de Venezuela como la Academia Nacional de Medicina (ANM), Sociedades científicas como la RSCMV, Sociedad Venezolana de Infectología, Sociedad Venezolana de Tórax, Sociedad Venezolana de Salud Pública, Terapia Intensiva y

Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría, así como con organizaciones de la sociedad civil.

- Elaborar protocolos de atención y manejo de casos sospechosos y seguimiento de los contactos.
- Informar y comunicar a la opinión pública de forma oportuna y transparente sobre número de casos, así como de las complicaciones.

Como corolario queremos recalcar que las enfermedades infecciosas, como ésta, constituyen un desafío mundial y un riesgo a considerar en contextos de viaje (placer o trabajo), o de transferencia de bienes entre países. La epidemia por el 2019-CoV podría ser una oportunidad para evaluar el impacto global del fenómeno y la importancia de la comprensión global de aproximarse al desarrollo bajo la mirada de “Una Salud”, debido a la relevancia de las interacciones que se establecen entre el ambiente y la salud (animal y humana), y el desarrollo y la economía global.

Alicia Ponte-Sucre
Facultad de Medicina,
Universidad Central de Venezuela
Miembro Correspondiente electo, Academia de Ciencias
Físicas, Matemáticas y Naturales

OBITUARIO

ACADÉMICO FRANCISCO KERDEL VEGAS



La Academia de Ciencias Físicas Matemáticas y Naturales expresa su profundo pesar por el sensible fallecimiento del Académico Dr. Francisco Kerdel Vegas quien en vida supo con creces, honrar el Sillón XIII de nuestra Academia. Médico venezolano y hombre polifacético, que con tenacidad inagotable dedicó su vida a cultivar y difundir el conocimiento científico de su formación académica así como el pensamiento ético y humanístico, a muchas generaciones.

Francisco Kerdel Vegas, a continuación de su graduación como médico de la Universidad Central de Venezuela en 1951, siguió estudios de postgrado en dermatología en el Massachusetts General Hospital de Boston (Escuela de Medicina, Universidad de Harvard) y en el Skin & Cancer Unit de New York University, especialidad que siguió cultivando a lo largo de su brillante carrera. A su regreso a Venezuela, a mediados de los años 50 se reintegró a la Universidad Central de Venezuela, su casa de estudios, como Profesor Asistente de dermatología y donde luego alcanzó la categoría de Profesor Titular. Por muchos años compartió su carrera de docente-investigador con el ejercicio profesional en su especialidad y como Profesor distinguido de la Escuela Vargas de la UCV, donde fue fundador del Instituto Nacional de Dermatología, que más adelante pasó a ser el Instituto de Biomedicina.

Su brillante carrera se destaca en los siguientes cargos y diligencias: Individuo de Número de las Academias de Medicina y de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales de Venezuela, Miembro Honorario de las Academias Nacionales de Medicina de Brasil, Colombia, Chile y Paraguay. Creador del programa de intercambio en Dermatología con la Universidad de Stanford. Primer Vicerrector Académico y fundador de la Universidad Simón Bolívar y miembro del Comité Directivo de la Universidad Metropolitana.

Autor intelectual del proyecto de becas Gran Mariscal de Ayacucho y miembro de su primera Directiva. Fundador y editor de Bitácora Médica, página web/blog de salud en español. Presidente de la Sociedad Internacional de Dermatología.

Como diplomático se destacó en su papel de Embajador de Venezuela en el Reino Unido entre 1987 y 1992, Embajador en Francia y representante ante la Unesco, a mediados de los años 90. En su designación como diplomático y fiel a su percepción de la ciencia universal estableció estrechas relaciones con las comunidades académicas e intelectuales de esas naciones. Alentó y promovió las cátedras Simón Bolívar de la Universidad de Cambridge, Andrés Bello de la Universidad de Oxford, y Francisco de Miranda de la Universidad de Paris.

Creyó en la importancia de mantener ligados al país a venezolanos destacados que desarrollaban sus actividades científicas y culturales en el extranjero, mediante el diseño de mecanismos de intercambio con pares en el país lo que dio origen a su proyecto de la Fundación Talento Venezolano (Talven), en el cual se programaba una serie de mecanismos que incluían investigaciones conjuntas, cursos a distancia, entrenamiento de profesionales, y tantos otros de capital importancia para el desarrollo científico y cultural del país. Siempre muy preocupado por la fuga de capital humano, exhortó a varios colegas a desarrollar estudios comparativos de los factores que indujeron la diáspora de varias generaciones.

En una muestra de su amplitud de mente expresaba su inconformidad con aquellos profesionales que solo se interesaban en temas relacionados con su experticia y los calificaba, aunque expertos en su área, como profesionales incompletos.

Francisco Kerdel Vegas significó un académico fundamental para nuestra corporación, fue amigo, consejero aunque veces muy duro, pero siempre fiel a su condición de personaje universal tremendamente involucrado en el bienestar de su país.

Paz a sus restos

GUÍA PARA LOS AUTORES

Boletín

Objetivos generales

EL boletín es el órgano de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales para la difusión del conocimiento científico y técnico. Es una publicación semestral, de libre acceso, revisada por pares y multidisciplinaria en temas de competencia de la Academia. Es una publicación digital, que será impresa cuando así lo considere la Comisión Editora y la Junta de Directores. Su publicación no genera costos a los autores.

El Boletín publica preferentemente trabajos de investigación originales, artículos de revisión, ensayos, trabajos de incorporación, discursos y resultados de foros auspiciados por la Corporación. Se entiende que el material enviado al Boletín de la Academia no ha sido publicado ni enviado a otros órganos de difusión cualesquiera sean su tipo.

- *Artículos de investigación.* Contribuciones originales resultantes de investigaciones científicas realizadas por los autores.
- *Artículos de revisión.* Son trabajos exhaustivos sobre un tema (campo del conocimiento, línea de investigación, etc.) particular. Se recomienda que los mismos puedan dar una visión integradora del tema, actualizando la información proveniente de diferentes autores y fuentes y colocándola en un lenguaje accesible a públicos cultos, aunque no necesariamente especialistas en el campo.
- *Ensayos.* Son trabajos similares a los anteriores donde el mayor peso lo tienen las opiniones que el autor pueda desarrollar sobre un tema de actualidad y de prioritario interés para la Corporación, incluyendo la posibilidad de información original, producto de investigaciones propias del autor que podrían enriquecer el ensayo con información actual.
- *Trabajos de Ingreso.* Como su nombre lo indica, son los trabajos sometidos a la Corporación como requisito parcial para ser aceptado como Miembro Correspondiente.
- *Discursos.* Se incluirán los discursos realizados por las autoridades de la Corporación, por invitados a la Corporación o por cualquier miembro de la Academia durante el acto de su incorporación.
- *Resultados de foros.* La revista publicará en forma regular los resultados parciales (resúmenes) o en extenso de foros organizados por la Academia.

Normas para la presentación de trabajos sometidos a publicación

Los artículos para el Boletín se presentan en tamaño carta a una columna y son recibidos en Word o LaTeX. Podrán ser escritos en español o inglés.

- Los manuscritos deben contener:
 - ✓ Título en español y en inglés.
 - ✓ Resumen en español y en inglés de hasta 150 palabras.
 - ✓ Palabras claves en español y en inglés.
 - ✓ Dirección postal de los autores. Indicar el autor de correspondencia.
- El Boletín se estructura en secciones: Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Conclusiones, etc. Las secciones tienen un nivel hasta 4, siendo las tres primeras estrictamente numeradas: sección (1.), subsección (1.1), subsubsección (1.1.1) y párrafo (sin número en letra cursiva).
- Figuras, cuadros y tablas pueden estar incluidos en el texto, pero también deben ser enviados (correctamente identificados) por separado. Deben ser concisos y legibles. Su tamaño debe adecuarse al espacio de una columna (80 mm) o de doble columna (160 mm).
- Las tablas y cuadros no deben contener líneas internas ni sombreados. Deben ser presentadas en Excel cuando el texto es en Word.
- Figuras y fotografías
 - ✓ Color: resolución de 300 dpi a color; en RGB (edición digital); número colores 8-bit (256).
 - ✓ Tono de grises: resolución de 300 dpi.
 - ✓ Blanco y negro: resolución de 600 dpi.
- Para claridad, evitar patrones de sombreado y relleno en las figuras. Cuando se trabaje en Word, salvar en TIFF preferiblemente, y en LaTeX, guardar el PDF.
- Los pies de página deben evitarse en lo posible. No se permitirán para referencias.
- Tener los permisos de copyright en todos los casos que lo requieran.
- Referencias bibliográficas:

- ✓ El estilo de citas es numérico Vancouver; es decir, [1]. El orden en la lista de referencias (bibliografía) es aquel del trabajo citado en el texto.
- ✓ El estilo de la bibliografía es similar al de Nature. Los siguientes ejemplos ilustran las diferentes formas de presentación de las referencias bibliográficas. (ejemplos)

[1] White, B. D., Thompson, J. D. y Maple, M. B. Unconventional superconductivity in heavy-fermion compounds. *Physica C* **514**, 246-278 (2015).

[2] Ortmann, J. E. *et al.* Competition between antiferromagnetism and ferromagnetism in Sr_2RuO_4 probed by Mn and Co doping. *Sci. Rep.* **3**, 2950 (2013).

[3] Betts, D. S. *An Introduction to Millikelvin Technology* (Cambridge University Press, Cambridge, 1989).

[4] Landaeta, J. F. *Unconventional superconductivity and quantum criticality in noncentrosymmetric heavy fermions*. PhD Thesis, Universidad Central de Venezuela (2017).

[5] López, S. E., Ceballos, J. y Quiroz, A. L. *Quantum bits: a new way for computing*. Preprint en <http://arXiv.org/quant-ph/0210156> (2020).

[6] Bonalde, I. *Producción científica en Venezuela en los últimos 30 años*, <https://sites.google.com/site/lowtemplab/venezuela-1982-2012> (2013)

[7] Bauer, E. y Sigrist, M. (Eds.) *Non-Centrosymmetric Superconductors: Introduction and Overview*, Lecture Notes in Physics Vol. 847 (Springer-Verlag, Berlin, 2012).

[8] Kimura, N. y Bonalde, I. Non-centrosymmetric heavy-fermion superconductors. En *Non-Centrosymmetric Superconductors: Introduction and Overview*, editado por E. Bauer y M. Sigrist, Lecture Notes in Physics Vol. 847 (Springer-Verlag, Berlin, 2012), Chap. 2, pp. 35–79.

Notas adicionales si se usa LaTeX

Además de las indicaciones anteriores, se sugiere:

- Utilizar documentclass article
- Se sigue `\cite{key} → [#]`, donde # es un número dado por el orden en la bibliografía.

Envío de documentos

Para evaluación se debe enviar el manuscrito (texto con figuras, cuadros y tablas incluidas) en PDF.

De ser aceptado el manuscrito, se deben enviar:

- Word: texto archivo.doc; tablas y cuadros en Excel y figuras en TIFF.
- LaTeX: archivo.tex (con referencias incluidas) y figuras en PDF.

Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales
Palacio de las Academias, Av. Universidad, Apartado de Correo 1421. Caracas, 1010-A. Venezuela
