

## RESEÑA BIBLIOGRÁFICA BIOTECNOLOGIA Y SALUD

### REVIEW: BIOTECHNOLOGY AND HEALTH

Reguero M.T<sup>1</sup>., Cardozo C<sup>2</sup>.

#### RESUMEN

La biotecnología ha adquirido una especial relevancia en el campo de la salud con el advenimiento de procesos como la inmunización, marcadores de riesgo de ciertas patologías, la terapia génica, la obtención de biofármacos, la protección y recuperación del medio ambiente o la producción de alimentos en los cuales se utilizan las metodologías propias de la biología molecular y la ingeniería genética, propiciando el mejoramiento de la calidad de vida. Se reseña la contribución y el impacto que ha tenido la biotecnología en el desarrollo y modernización de las ciencias de la salud dentro del concepto moderno e integral de proceso salud enfermedad como un estado continuamente cambiante inmerso en condiciones socioambientales particulares.

**Palabras Claves :** Biotecnología, Salud, Prevención, Diagnóstico, Alivio, Curación.

#### SUMMARY

Biotechnology plays an important role in the Health Sciences. The production of immunoreagents and biological drugs, gene therapy, the food industry and the environmental protection have been using the molecular biology and genetic engineering knowledge to improve

the quality of life. This review summarizes the contribution and impact of the Biotechnology to the advance of the Biomedical Sciences. The work is framed within the idea that the health-disease process changes according to specific social and environmental conditions.

**Keywords.** Biotechnology, Health, Prevention, Diagnostic, Relief, Healing.

#### INTRODUCCIÓN.

Entender el contexto actual de la salud y la enfermedad no resulta tan simple como hace 20 o 30 años cuando se consideraba como un concepto de carácter estático, el cual se asumía como el estado de bienestar físico y mental de una persona o bien, se aceptaba como un «desequilibrio homeostático» o un desequilibrio medio ambiental determinando un «momento» tanto para la salud como para la enfermedad. En ocasiones era llevando a una mayor amplitud conceptual mediada por concepciones sicosociales o socioculturales o socioambientales altamente flexibles. La investigación básica y clínica ha evidenciado, cada vez más y de manera más contundente, cómo la salud y la enfermedad se constituyen en complejos sistemas donde las interacciones entre las características intrínsecas o genotípicas de las personas son modificadas o moduladas por condiciones extrínsecas, generando un proceso dentro del cual se encuentran en permanente interacción, en este contexto se habla entonces del proceso salud - enfermedad en el ciclo vital humano. La

<sup>1</sup> Q.F. Bióloga. Directora. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia

<sup>2</sup> Odontóloga. Docente. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Colombia. treguero@ciencias.ciencias.unal.edu.co y cardozo@bacata.usc.unal.edu.co

biotecnología implica la utilización de organismos vivos, partes de ellos o sus productos para la obtención de bienes y servicios. Hacking la define como «la aplicación de los principios básicos de las ciencias naturales e ingenierías al procesamiento de materiales para proveer bienes y servicios» (Hacking, 1986). Esto quiere decir en palabras sencillas que el mismo organismo humano y su comportamiento debe servir como base de conocimiento y manejo tanto de las condiciones de salud como de enfermedad. Concatenar entonces los conceptos de salud - enfermedad y biotecnología implica colocarlos dentro de los distintos escenarios en los cuales interactúan para proporcionar lo que se denomina actualmente como mejoramiento de la calidad de vida.

Propiciar salud en un individuo ha implicado construir herramientas que permitan el abordaje del problema en los distintos momentos a saber : **Promoción** (educación, motivación, concientización), **Prevención** (con medidas específicas como conservación del medio ambiente, vacunas, alimentos), **Diagnóstico** (anticuerpos monoclonales, sondas moleculares), **Alivio** (fármacos de naturaleza protéica, metabolitos secundarios), **Curación** (biomiméticos, transplantes, implantes, terapia génica), las cuales se revisarán de manera sucinta a continuación.

## PROMOCIÓN

En los últimos años los medios de divulgación tradicionales y los actuales multimediales han sido la mejor herramienta que ha utilizado la biotecnología para motivar a las comunidades hacia la utilización de productos biotecnológicos, asociándolos a las actividades de la vida cotidiana. La búsqueda de indicadores sensibles de cambios medio ambientales, el establecimiento de sistemas que determinen factores de riesgo, pautas para acondicionar mejores y más saludables esquemas de vida son, entre otros, algunos de los productos de la biotecnología. La televisión y la radio frecuentemente difunden programas de bienestar que tienen su origen en trabajos biotecnológicos. Tal es el caso de los medios de diagnóstico precoz del embarazo, de detección prematura de placa bacteriana, de métodos de renovación microbiana para mejorar o solucionar el mal aliento, para mantener el cabello sano, para evitar las arrugas y mil sistemas más de uso diario que han impulsado programas que van mucho más allá de la prevención.

## PREVENCIÓN

### a) Medio Ambiente

Como se mencionó inicialmente, no solamente las condiciones inherentes a la función orgánica reguladas por la información transmitida de padres a hijos son las responsables del proceso salud - enfermedad, deben considerarse los factores exógenos asociados, los cuales pueden determinar en un momento dado la modificación

total del organismo de una persona, por ello, sin lugar a dudas el medio ambiente juega un papel fundamental en la conservación de este atributo. Aspectos tan importantes como la calidad del aire que respiramos, el agua que utilizamos o el terreno en el que nos movemos influyen de manera decisiva en nuestra salud. La biotecnología se constituye en un factor determinante en los procesos de evaluación de estos recursos. La evaluación de los efectos tóxicos sobre el hombre ha sido tradicionalmente el campo de estudio de la toxicología. El término *Ecotoxicología* se acuñó en 1969 por Truhaut, como una toxicología en la cual se consideran los efectos ecológicos de los contaminantes y básicamente conlleva al estudio de la relación dosis-efecto de los xenobióticos presentes en el medio ambiente respecto a los sistemas bióticos. Al hablar de daño es importante clarificar que se hace referencia tanto al nivel estructural, como al nivel funcional del sistema en estudio. Los procesos de toxicidad referidos a un ecosistema pueden manifestarse a dos niveles a saber : organismos individuales (bioacumulación) y en la cadena trófica (biomagnificación). Sin lugar a dudas, la diferencia clara entre toxicología y ecotoxicología estriba en la metodología que se utilice, particularmente en las especies seleccionadas para adelantar los ensayos. Organismos internacionales de regulación y normalización como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Internacional para la Normalización han elaborado algunas guías o protocolos para adelantar los ensayos de toxicidad (OMS, 1978). Un elemento fundamental en estos protocolos es la selección de los organismos de prueba (microorganismos, algas, crustáceos, peces, rotíferos, etc.) los cuales deben cumplir con ciertos criterios como son: sensibilidad constante y elevada frente a los tóxicos; disponibilidad de un número adecuado de ejemplares; utilización de organismos que sean representativos del ecosistema y que formen parte de su estructura y funcionamiento ; asegurar la estabilidad genética y uniformidad en las poblaciones que son utilizadas en los bioensayos ; conocimiento profundo de los aspectos biológicos, fisiológicos y nutricionales de los organismos de prueba y finalmente fáciles de ser cultivados en las condiciones de laboratorio.

Evaluar el potencial tóxico de un recurso acuático constituye el primer paso en la detección de procesos contaminantes que afectan negativamente la salud de la población. En la realización de estos bioensayos como hemos podido observar se utilizan distintos organismos de la cadena trófica, los cuales presentan variada sensibilidad a la presencia de elementos tóxicos. Organismos y microorganismos sirven entonces como indicadores de la calidad toxicológica del agua, entre ellos podemos mencionar : algas clorofitas - *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris*- (Lewis, 1986 ; Walsh,

1987 ; Sáenz, 1993) ; microcrustáceos - *Daphnia magna*, *Daphnia pulex*, *Daphnia spinulata*, *Ceriodaphnia spp* - (International Standard, 1989 ; Alberdi, 1990) y peces - *Cnesterodon decemmaculatus*, *Brachydanio rerio*, *Plecostomus commerson*, *Pimephales promelas*, *Lepomis macrochirus*, *Poecilia reticulata*, *Oryzias latipes*, *Cyprinus carpio*, *Salmo gair-* (International Standard, 1984 ; Tortorelli, 1990, Vittozzi, 1991), entre otros.

Una vez que se ha identificado los materiales contaminantes del recurso, es necesario proceder a su descontaminación. En este proceso el aporte de la biotecnología se consolida a través de la utilización de microorganismos capaces de degradar los compuestos presentes. Procesos como la digestión con microorganismos anaerobios son comunes dentro de las plantas de tratamiento de agua. Nuevamente los organismos vivos son utilizados con el propósito de obtener agua con una calidad adecuada. La constatación de que el agua procedente de un tratamiento biotecnológico posee las cualidades necesarias para su consumo es nuevamente monitoreada utilizando como reactivo indicador un bioensayo.

A pesar de haber hecho énfasis en el recurso hídrico, situaciones similares se pueden presentar para aire y suelo. En este último recurso es necesario puntualizar el gran potencial que tienen los procesos biotecnológicos en la recuperación de los suelos. Estos procesos implican la utilización de microorganismos capaces de restaurar las condiciones naturales, especial mención merece la utilización de microorganismos en el tratamiento de los derrames de petróleo.

**La Biorremediación** se constituye entonces en un elemento indispensable para la recuperación de los ecosistemas que han sido alterados.

Las condiciones medio ambientales son un elemento que presenta una influencia decisiva en la salud de los seres humanos. La eliminación de agentes infecciosos que se encuentran en el entorno, a través de la implementación de medidas higiénicas constituye una primera etapa de prevención de las enfermedades infecciosas. El conocimiento del ciclo de vida de los agentes causales de las enfermedades hace posible la eliminación, por ejemplo de los vectores en los cuales se realizan algunas etapas del ciclo de vida del parásito. Una de las alternativas biotecnológicas que es utilizada con frecuencia son los biopesticidas. Este tipo de compuestos presentan ventajas sobre los pesticidas químicos como puede ser la especificidad que poseen, la no residualidad, toxicidad selectiva y en general la inestabilidad a las condiciones ambientales. Un ejemplo exitoso en este sentido es la d-endotoxina obtenida de *Bacillus thuringiensis*.

## b) Vacunas

La biotecnología proporciona alternativas para prevenir ciertas enfermedades mediante la obtención de vacunas eficaces contra un patógeno o la utilización de inmunoglobulinas humanas durante el período de incubación, las cuales también son obtenidas por procesos biotecnológicos. Las vacunas se pueden producir mediante el empleo de los organismos causantes de la enfermedad muertos o atenuados. En enfermedades producidas por virus, la inmunización activa se hace utilizando el virus atenuado. Sin embargo, las respuestas antigénicas (anticuerpos) pueden ser bajas. En el caso de la hepatitis A se emplean suspensiones libres de patógenos del virus, inactivado con formalina y adsorbido sobre hidróxido de aluminio. También es posible producir vacunas mediante el uso de proteínas inmunogénicas o bien péptidos sintéticos, obtenidos en la mayoría de las veces en fase sólida. En este caso es importante la selección del fragmento, la presentación con portadores -proteínas encapsuladas en liposomas o unidas a la superficie del liposoma- y adyuvantes para potenciar la respuesta inmunitaria. En esta etapa es necesario realizar la cuantificación (por métodos de ELISA) de los anticuerpos presentes en el líquido ascítico para desafiarlos frente al péptido que les dio origen o frente al virus completo para, posteriormente, adelantar las pruebas de su capacidad neutralizadora de la infección (Haro, 1997). Como hemos podido constatar en todos los procesos involucrados en la producción de vacunas está presente la biotecnología.

Los desarrollos recientes en esta disciplina permiten que una vez conocida la secuencia de los aminoácidos presentes en la proteína inmunogénica, esta se pueda obtener a partir de métodos que involucran tecnologías de expresión y procesos de fermentación. La primera generación de sistemas de expresión lo constituyen levaduras del tipo de *Sacharomyces cerevisiae*, mientras que una levadura prototipo de una segunda generación es *Hansenula polymorpha*, la cual presenta algunas ventajas, sobre las de primera generación como elevada viabilidad, bioseguridad, estabilidad mitótica y características superiores en el proceso de fermentación. Estas características hacen que el proceso sea mas reproducible con bajos costos y utilizando medios de fermentación no selectivos.

Es importante recalcar que el estudio de las bases moleculares de las enfermedades infecciosas es lo que ha hecho posible el desarrollo de las vacunas sintéticas basadas en péptidos y proteínas. Estas vacunas presentan ventajas sobre las vacunas tradicionales entre las que se pueden mencionar : la seguridad ya que las sintéticas no emplean el patógeno como un componente de la vacuna ; la especificidad de la respuesta inmune y la posibilidad de preparar vacunas contra varios patógenos. Se ha encontrado que este tipo de vacunas

sintéticas podrían ser utilizadas en el tratamiento y prevención de enfermedades autoinmunes y cáncer. La presentación farmacéutica de la mayoría de las vacunas es para ser administradas por vía parenteral. En la actualidad uno de los objetivos de las empresas se centra en el diseño y desarrollo de vacunas activas por vía oral. Algunos de los problemas que se deben solucionar para la administración oral son: asegurar que el inmunógeno llegue en suficiente cantidad al sitio de absorción; que se encuentre en estado funcional; que permanezca estable tanto en las condiciones ácidas del estómago como en la presencia de las proteasas del tracto gastrointestinal. La utilización de plantas como productoras de vacunas y proteínas terapéuticas ha cobrado gran interés y ofrece la ventaja de una producción a gran escala costo-efectiva y la seguridad cuando se compara con el uso de cultivos celulares animales. Es importante mencionar que en este caso es posible utilizar los virus de las plantas como portadores de los antígenos lo cual le confiere seguridad al proceso y adicionalmente, algunos virus de plantas son resistentes a condiciones de pH ácidas y al ataque de proteasas lo cual ofrece una alternativa promisoría para el desarrollo de vacunas orales. (Rodgers, 1996)

Ejemplos de vacunas que utilizan el microorganismo completo atenuado : virus sarampión, virus paperas, poliovirus, virus rubéola y *S. tify*. Microorganismos completos muertos : adenovirus , *Bordetella pertussis*, virus hepatitis A, virus de la gripe, poliovirus, virus de la rabia, virus varicela. Subunidades naturales del microorganismo : *Bordetella pertussis*, *C. diphtheriae*, *H. influenzae*, virus hepatitis B, virus de la gripe, *Meningococo A*, *Meningococo C*, *C. tetani*, *S. typhi*. Subunidad recombinante del microorganismo: *Bordetella pertussis* y virus de la hepatitis B. Aprobadas por la Food and Drug Administration (FDA) se encuentran Engerix-B, vacuna contra hepatitis B (SmithKline Beecham, 1989) y Recombivax HB, vacuna contra la hepatitis B (Merck & Co. 1986) y se trabaja en la preparación de vacunas contra la infección por herpes genital (VSH-2), hepatitis B (VHB) y C (VHC). Papilomavirus (PVH), *Helicobacter pylori* (HP) y VIH. La hepatitis B afecta a más de 300 millones de personas y cobra cada año 2 millones de vidas humanas. La primera vacuna contra este flagelo se debe al equipo de M.R. Hilleman de Laboratorios Merck quienes en 1976 confirman la viabilidad de una vacuna contra el virus de esta forma de hepatitis. (Rappuoli, 1997)

Actualmente el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) que es el principio activo de la vacuna de la hepatitis B, se produce en sistemas de expresión de primera generación. Una posible explicación para esto es que los organismos regulatorios, como la FDA en los Estados Unidos, no aceptan cambios en la producción biológica hasta que no se demuestre, a través de ensayos, que el nuevo sistema es seguro y ello implica que el

proceso se vuelva costoso en términos de tiempo y dinero. Desde luego los costos de la producción de vacunas debe mantenerse dentro de ciertos límites que permitan su comercialización. Los niveles de precio promedio de una dosis de vacuna en los Estados Unidos es del orden de US\$ 20, mientras que en Alemania se acerca a los US\$ 100 por dosis. Esto es relevante si se considera que el mercado mundial para la vacuna de la hepatitis B durante 1996 fue de 300 millones de dosis. Utilizando como sistema de expresión *Hansenula polymorpha*, se puede producir mayor cantidad de HBsAg que empleando el sistema de primera generación, lo cual significa que los costos de producción de HBsAg pueden sufrir una reducción significativa por debajo de US \$0.50 por dosis. (Ellens, 1996)

### c) Alimentos

Son numerosos los ejemplos de especies vegetales que han sido transformadas utilizando técnicas de biología molecular y de ingeniería genética, para obtener plantas con características específicas como puede ser : períodos de maduración mas prolongados, incrementos notables en la cantidad y calidad de proteína presente en el material, plantas con resistencia a condiciones ambientales adversas (salinidad o acidez de suelos), plantas resistentes a patógenos, a plaguicidas, características que facilitan el proceso productivo (contenido de sólidos totales, tamaño, color, etc.) entre otros. Un ejemplo de una planta en la cual se presenta la característica de madurez retardada es el tomate, desarrollada por Monsanto comercializado como *Flavr Savr*. En la actualidad existen 16 plantas transgénicas aprobadas para su comercialización y se espera que en los próximos años este número se eleve a 80. En el renglón agroalimentario se encuentran más de 30 productos desarrollados y comercializados. (Cabra, 1997)

Un ejemplo de lo anterior lo constituye la utilización de algunos sistemas enzimáticos como las ribonucleasas para la protección de plantas de interés en alimentación, como en el caso de papa. Estos sistemas han resultado eficaces para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la presencia de viroides en las plantas. Dado que los viroides son segmentos circulares de RNA que no presentan proteínas, no se pueden aplicar en estos casos las estrategias de inmunización basados en el reconocimiento de ciertas secuencias peptídicas por los anticuerpos. Es así que la biotecnología mediante la utilización de la ribonucleasa *Pac1*, procedente de una levadura, usando sistemas «*in vitro*» digiere eficazmente el viroide PSTVd (Potato Spindle Tuber Viroid). Conocida la secuencia de bases que codifica para esta ribonucleasa se clonó en un vector y se introdujo en plantas de papa. La presencia del transgene en las plantas de papa transformadas contribuye a la reducción sustancial del número de plantas que son infectadas por el viroide. Esta investigación se encuentra a nivel de laboratorio pero es



sumamente prometedora para la consecución de plantas resistentes al PSTVd. (Léger, 1997).

En el campo de los alimentos de origen animal la biotecnología ha contribuido de manera notable a la obtención de animales con características específicas que los hacen más aptos para la alimentación humana. Por ejemplo, los trabajos de Ruxandra Draghia-Akli y sus colaboradores, en la Escuela de Medicina de la Universidad de Baylor (Texas, USA), han demostrado que es posible obtener niveles adecuados de hormona de crecimiento (GH) en el tejido muscular a partir de la inyección de DNA plasmídico que contiene el gene que codifica esta hormona liberadora la hormona de crecimiento (GHRH), la cual siendo hipotalámica estimula la secreción de GH por la hipófisis. Estos investigadores demostraron que la GHRH es sintetizada en las células musculares y con ello se produce una liberación de la GH, que ocasiona una ganancia de la masa muscular del orden del 10%. Utilizando estos métodos biotecnológicos es posible obtener un incremento del 60% de la masa muscular en cerdos y una disminución del 75% del tejido adiposo. Así mismo es posible, con estas técnicas incrementar la producción de leche en el ganado lechero entre un 10 y un 15% mediante la administración de GH obtenida por tecnología del ADN recombinante. (Draghia-Akli, 1997, Abou, 1997)

Los animales transgénicos ofrecen una oportunidad única en áreas como la agricultura, la salud, en investigaciones básicas y desde luego en la producción de productos farmacéuticos y de alimentos. El uso de animales transgénicos con variados propósitos se ha incrementado notablemente en los últimos años. Por ejemplo, en Inglaterra durante el período comprendido entre 1990 y 1995 el incremento fue del 525%. Desde luego no podemos desconocer que existen problemas éticos que deben ser analizados antes de iniciar la utilización de animales transgénicos como reactivos biológicos. (Mephan, 1998)

## DIAGNÓSTICO

### 1) Anticuerpos Monoclonales

La obtención de anticuerpos monoclonales (MAbs) como elementos importantes para el establecimiento de un certero diagnóstico es otra área en la cual la biotecnología ha hecho aportes importantes. Existen tres etapas fundamentales en la obtención de anticuerpos monoclonales a saber : 1) Inmunización, 2) formación de hibridomas y 3) producción de los anticuerpos. El primer paso de inmunización se puede realizar en animales o utilizando cultivos celulares. La formación de hibridomas implica la utilización de técnicas «*in-vitro*» y finalmente la producción de anticuerpos puede realizarse a través del líquido ascítico o de metodologías «*in vitro*». Es tan importante esta metodología de producción de anticuerpos que Kholer y Milstein recibieron el Premio

Nobel en 1984 por este descubrimiento. Los anticuerpos monoclonales se obtienen inyectando los hibridomas en la cavidad abdominal de diferentes especies de roedores y lagomorfos. Hasta el momento se han utilizado varios millones de animales para la obtención de los anticuerpos que se requieren no solamente con fines diagnósticos sino también para la investigación biomédica. Lo anterior ha suscitado una gran controversia y actualmente se están adelantando estrategias utilizando técnicas «*in vitro*» que permitan la obtención de anticuerpos monoclonales obviando el empleo y el sufrimiento de los animales. (McArdle, 1997/1998). Un ejemplo de la utilización de anticuerpos monoclonales en la etapa de diagnóstico lo constituye la obtención, por un equipo de investigadores de la Universidad de Zurich, del anticuerpo monoclonal 15B3 que es capaz de reconocer selectivamente una forma anormal y patológica del prion PrPc que se encuentra normalmente en las células. El prion anormal es el PrPsc (sc por *scrapie*) agente causal de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob y Gerntmann-Straussler patologías que se caracterizan por la aparición de demencia rápidamente progresiva, acompañada de diversas manifestaciones neurológicas tales como mioclonus, ataxia cerebelosa, fallas en la coordinación, signos extrapiramidales, ceguera cortical lo cual conduce a la muerte en pocos meses. (Prusiner, 1997)

### 2. Sondas moleculares

Hace 20 años no existían pruebas de diagnóstico presintomático de enfermedades hereditarias. Hoy más de 30 enfermedades de este tipo pueden ser diagnosticadas en el útero a través del análisis de DNA. La aplicación de la técnica del DNA recombinante para clonar y mapear genes humanos ha sido en parte la responsable de este rápido progreso y ha permitido un nivel más profundo del conocimiento acerca de las bases moleculares de las enfermedades. En 1982 se utilizó una prueba usando sondas de DNA para detectar una mutación que causa anemia falciforme, una patología (talasemia) que afecta a uno de cada 600 negros americanos. (Chang, 1982)

El gen responsable es el que codifica para la b-hemoglobina y fue el primer gene humano clonado utilizando métodos de DNA recombinante. En este caso fue determinante el conocimiento de la secuencia de aminoácidos de la proteína con lo cual se pudo clonar como cDNA y demostrar su localización en el cromosoma. Secuencias de DNA polimórficas son excelentes marcadores genéticos para detectar variaciones en el DNA humano. Para la implementación de estas pruebas es necesario la utilización de enzimas de restricción para detectar cualquier variación en la secuencia que alteran los fragmentos de restricción. Dichas variantes incluyen la alteración de una sola base lo cual hace que la secuencia de reconocimiento se altere y no se pueda llevar a cabo el rompimiento y también incluyen la

inserción o delección de la secuencia de DNA entre los sitios de reconocimiento. Estos fragmentos de restricción polimórficos (RFLPs) son detectados por una primera digestión de DNA genómico procedente de varios individuos con una enzima de restricción dada. Los fragmentos obtenidos son separados por electroforesis en un gel de agarosa de acuerdo con su tamaño y transferidos a una membrana de nylon o nitrocelulosa (Southern transfer o Southern blot) y posteriormente son hibridizados utilizando una sonda radioactiva. Las autoradiografías ponen de manifiesto los patrones de las bandas cuya posición refleja el tamaño de los fragmentos con los cuales se hibridiza la sonda. De esta forma se pueden evidenciar los polimorfismos en una población dada y con ello se puede disponer de marcadores genéticos. Utilizando RFLPs es posible poner de manifiesto desórdenes atribuidos a un solo gene como es el caso de la enfermedad de Huntington, fibrosis quística y patologías asociadas al cromosoma X. Este tipo de diagnóstico se puede llevar a cabo utilizando muestras de sangre (5 a 15 mL) del individuo bajo estudio. También es posible utilizar líquido amniótico el cual es tratado con una endonucleasa apropiada, separados los fragmentos de acuerdo con su tamaño en gel de agarosa y posteriormente se transfiere a un soporte sólido (nylon o nitrocelulosa). Para poner de manifiesto el polimorfismo se utiliza una sonda radioactiva de  $^{32}\text{P}$ . Algunas de las enfermedades para las cuales se dispone de pruebas con RFLP son las siguientes: adrenoleucodistrofia, deficiencia de alfa 1 antitripsina (AAT), enfermedad renal policística (PKD1), gamma-globulinemia, alfa-talasemias, enfermedad de Alzheimer, polineuropatía amiloidótica, deficiencia de apolipoproteína CII, eteroesclerosis, distrofia muscular de Becker y beta-talasemia entre otras. (Tabor, 1989)

## ALIVIO

Un elemento fundamental en el alivio de las enfermedades es sin lugar a dudas los fármacos. Estos pueden ser producidos por síntesis, semisíntesis, de productos naturales o a través de procesos biotecnológicos. De manera genérica se podría hablar de farmoquímicos, fitofármacos y biofármacos dependiendo de su procedencia. No son pocos los casos de métodos de obtención de farmoquímicos en los que se utilizan enzimas o aún microorganismos para realizar una transformación química regioselectiva (reacciones que dan exclusivamente o casi exclusivamente uno de varios productos isómeros posibles) y estereoespecífica (reacción en la que moléculas o partes estereoquímicamente diferentes reaccionan en forma distinta) (Morrison, 1985). En el caso de fitofármacos la biotecnología apoya en procesos como el mejoramiento genético de las especies que los contienen, obteniendo ejemplares hiperproductores del metabolito secundario de interés o bien puede apoyar su producción industrial

utilizando técnicas como el cultivo de células en suspensión. En el caso de los biofármacos se observa claramente la injerencia de la biotecnología, ya que los procesos de obtención involucran la presencia de un organismo vivo o parte de él. Otra posible clasificación de los fármacos es aquella que toma en consideración su estructura química, pudiéndose dividir en fármacos de naturaleza protéica y sus derivados (glicoproteínas, hemoproteínas, lipoproteínas, etc.) y fármacos de estructura no protéica. Es claro que en el caso de fármacos con estructura protéica y sus derivados son obtenidos mediante el concurso de organismos vivos, mientras que los de naturaleza no protéica se pueden producir por métodos sintéticos, semisintéticos o por sistemas vivos.

### a) Biofármacos

El conocimiento cada día más profundo de los mecanismos moleculares involucrados en las diferentes patologías ha conducido a la obtención de fármacos que tienen la particularidad de ser una réplica exacta del compuesto endógeno responsable de la alteración bioquímica que se presenta. La producción de estos compuestos se realiza utilizando diferentes biorreactores como podrían ser: órganos, tejidos, líneas celulares, microorganismos, animales y plantas genéticamente modificados, entre otros. Desde principios de la década de los ochenta la técnica del DNA recombinante ha servido de base para la producción de proteínas de valor terapéutico como las enzimas del sistema circulatorio; hormonas, citoquinas y factores de crecimiento. Concomitantemente con el desarrollo de sistemas de producción de las proteínas se ha investigado sobre nuevos sistemas de entrega de fármacos que permitan que estas proteínas lleguen al sitio donde son requeridas sin sufrir cambios. Un ejemplo de esto lo constituye la creación en 1994 de RPR Gencell, una división de Rhône-Poulenc Rorer (RPR) dedicada exclusivamente al desarrollo de estos nuevos sistemas de entrega de proteínas. Es tan complejo este desarrollo que la RPR ha optado por hacer alianzas estratégicas con 15 compañías privadas constituyéndose en una red constituida por más de 800 investigadores y en la actualidad su prioridad es la oncología seguida por enfermedades cardiovasculares -particularmente estenosis vascular y arteroesclerosis- y desórdenes del sistema nervioso central. (Mayaux, 1996)

La eritropoyetina es una hormona que se biosintetiza en el riñón y en la médula ósea, estimula la diferenciación de las células precursoras hacia la formación de eritrocitos. En los casos en los que existe algún daño o compromiso renal la producción de la hormona disminuye y como consecuencia de ello se presenta anemia, en estos casos podría pensarse que una alternativa viable sería la transfusión sanguínea. Sin embargo, las múltiples transfusiones conducen a un incremento en los niveles

plasmáticos de hierro lo cual afecta órganos tan vitales como hígado y corazón. En un principio la eritropoyetina se obtenía por extracción de orina proceso sumamente dispendioso. La biotecnología ofrece una alternativa para la producción de esta hormona a través del cultivo de células de ovario de Hamster chino, cuyo tiempo de duplicación es de 24 horas y el proceso se ha podido escalar hasta fermentadores de 1000 litros. (Steigler, 1997)

En la actualidad varios grupos adelantan investigaciones en la obtención de plantas capaces de expresar algún biofármaco, tal es el caso de las plantas de tabaco que expresen el gen de la hemoglobina o plantas de maíz y soja capaces de biosintetizar vacunas, MAb's o proteínas terapéuticas. (Rodgers, 1996)

La utilización de organismos transgénicos para la obtención de biofármacos es una práctica que en la actualidad está cobrando gran importancia. Ovejas transgénicas a las cuales se les ha incluido el gen que codifica para la antitripsina a, producen leche que contiene esta enzima, la cual se utiliza en pacientes con efisema. Anteriormente esta proteína se obtenía por extracción de plasma humano. Si la productividad del proceso en ovejas fuera de 30 g por litro de leche, se requeriría de un rebaño entre 500 y 1000 ovejas para cubrir la demanda mundial de este biofármaco. (Steigler, 1997)

A través de los procesos biotecnológicos es posible efectuar modificaciones estructurales a la proteína de interés. Una de las principales causas de morbilidad son los problemas cardiovasculares. La formación de trombos ha sido tratada terapéuticamente mediante la utilización de enzimas que están involucradas en el paso de plasminógeno a plasmina. Dentro de ellas se pueden mencionar la estreptoquinasa y el tPA (factor activador del plasminógeno tisular). Hace aproximadamente 10 años surgió en el mercado farmacéutico el tPA (Alteplase®) como una alternativa terapéutica en el tratamiento de trombosis. El mecanismo de acción del tPA es unirse a la superficie del coágulo de fibrina donde reacciona con el plasminógeno ligado y por lo tanto no actúa en el interior del coágulo. En general, se requieren dosis elevadas de tPA, en infusión continua, lo cual puede conducir a hemorragias y otra característica importante es el extenso metabolismo hepático que sufre y por lo tanto su eliminación es rápida. Tomado esto en consideración los laboratorios farmacéuticos Boehringer Mannheim efectuaron una modificación en la secuencia de aminoácidos del tPA y obtuvieron el rPA (Retepase®) el cual presenta un tiempo de vida media 3 veces superior al tPa, se une más débilmente al trombo y como es producido por una bacteria no contiene moléculas de carbohidrato lo cual retarda su eliminación.

Adicionalmente este biofármaco puede ser administrado en inyección y no por infusión continua. (Steigler, 1997)

Las enzimas han sido siempre un objeto importante de estudio en biología. La actividad catalítica que poseen es importante para el desarrollo de procesos biotecnológicos a nivel industrial. Por ejemplo, la tripsina es una enzima que se utiliza para desprender las células de los biorreactores con el propósito de aumentar la población celular o para facilitar la extracción de los productos recombinantes. Esta enzima y la quimotripsina han sido utilizadas para el rompimiento específico de uniones peptídicas y pueden utilizarse para modificar las proteínas que se obtienen mediante la técnica de DNA recombinante. La carboxipeptidasa B es utilizada para modificar la insulina que se obtiene por tecnología de DNA recombinante para obtener la forma activa de la insulina. (Budnick, 1994)

### b) Fitofármacos

La producción de los fitofármacos puede realizarse por extracción de productos naturales vegetales, por cultivo de células vegetales y a través de plantas obtenidas por modificación genética. La biotecnología a través de la utilización de la síntesis «*in vitro*» de metabolitos secundarios de origen vegetal es una metodología invaluable para la obtención de productos fitofarmacéuticos. Un requerimiento fundamental para que esta metodología sea susceptible de ser utilizada, es que exista cierto grado de diferenciación celular y tisular para que se puedan llevar a cabo las reacciones biosintéticas de estos compuestos y disponer de elementos químicos necesarios en el medio de cultivo. Un ejemplo de la importancia que tiene la adición en concentraciones adecuadas de alguno de los nutrientes se pone de manifiesto en la producción de taxol a partir de cultivo de nódulos de diversas especies de *Taxus*. En condiciones de un cultivo semicontinuo cuando se utilizaba sacarosa al 0.2% solamente se detectaban trazas de taxol en los cultivos de nódulos, sin embargo, cuando se elevaban los niveles de sacarosa entre 0.5% y 1%, la producción de taxol se incrementó en el cultivo de nódulos de *Taxus cuspidata* a 12 mg/g en base seca. El aumento en la producción de taxol para incrementar las concentraciones de sacarosa se mantienen a pesar de que sean eliminados del medio de cultivo otros nutrientes. Es interesante comentar que el incremento en la producción de taxol no parece deberse a un efecto osmótico sino a un proceso metabólico en los nódulos. Si bien la incorporación de sacarosa en el medio de cultivo incrementa la producción de taxol, esta no se ve alterada cuando se adicionan precursores del núcleo del taxano, así como otros metabolitos secundarios de la planta. (Ellis, 1996).

Otro ejemplo de la utilización de materiales vegetales como materia prima para la obtención de productos de interés lo constituye la obtención de ceramidas para la industria cosmética a partir de plantas más que de fuentes animales. Las ceramidas se utilizan como emolientes en cremas y se obtienen a partir de

lecitinas de la soya. (Budnick, 1994). La biotecnología agrícola avanzada hace posible diseñar especies de plantas que pueden poseer genes que codifiquen para un producto de interés. En particular la investigación se ha centrado en las plantas de tabaco como sistemas de expresión de genes foráneos.

### c) Farmoquímicos

La industria farmoquímica actual requiere de procesos de obtención que garanticen la pureza enantiomérica de los fármacos. Hace 10 ó 15 años se podría acceder al mercado con productos que tuvieran un 90% del isómero activo, en la actualidad se requieren estándares que superen el 99%. Las separaciones de enantiómeros utilizando tecnología química con reactivos quirales es costosa y ello ha ocasionado que la investigación se oriente hacia la identificación de los mejores biocatalizadores para una reacción química dada y mediante esta aproximación se pueden obtener fármacos ópticamente puros. Para ello es posible utilizar las enzimas en forma soluble o inmovilizadas (zeolitas) que presentan la característica de ser insolubles tanto en solventes orgánicos como en agua, lo cual hace que sean fáciles de eliminar de la mezcla de reacción y el resultado final es un proceso de purificación de fármacos poco costoso. Estos sistemas enzimáticos son capaces de tolerar temperaturas elevadas, solventes orgánicos y un amplio espectro de pH. La estabilidad, pureza y reciclabilidad de estos sistemas los hace particularmente útiles para la producción en gran escala de productos farmoquímicos. Hasta el momento se encuentran en el comercio dos tipos de enzimas con estas características : el primer grupo que es capaz de producir péptidos no racémicos a través de la unión de aminoácidos (sistemas enzimáticos análogos a la termolisina y subtilisina ) y las que se ocupan de la resolución cinética de mezclas racémicas. Con el primer tipo de enzimas ha sido posible obtener la síntesis de un dipéptido Z-Asp-Phe-Ome, la síntesis de un heptámero y el acoplamiento de la cadena b de la insulina a un resto de Phe-NH<sub>2</sub>. Las enzimas derivadas de la subtilisina llevan a cabo una reacción estereoselectiva con aminoácidos L sin necesidad de grupos protectores y sin que se presente racemización. El segundo grupo de enzimas son capaces no solo de efectuar separaciones de mezclas racémicas sino también pueden llevar a cabo reacciones químicas regio y quimioselectivas como podría ser la hidrólisis de un grupo éster en presencia de grupos funcionales sensibles a esta reacción. Este tipo de enzimas se prepara a partir de una hidrolasa comercial, la lipasa procedente de *Candida rugosa*, que en realidad en una mezcla de enzimas. Utilizando esta enzima modificada ha sido posible separar farmoquímicos tan importantes como el ibuprofeno y el ketoprofeno. Una

proteasa semejante a subtilisina puede utilizarse para resolver ésteres de alfa aminoácidos, mesodiésteres, y ésteres proquirales entre otros. En este mismo grupo existen enzimas utilizadas para acilaciones regioselectivas y deacilaciones en estructuras químicas tan importantes como esteroides, carbohidratos y nucleósidos. (Grim, 1996)

En la actualidad la FDA ha aprobado la comercialización de varios biofármacos. los cuales se resumen en la Tabla 1.

## CURACIÓN

### 1) Terapia por biosustitución

El surgimiento de los biopolímeros como elementos que permiten y propician la liberación lenta de diversas sustancias como factores de crecimiento, medicamentos y demás es un campo altamente desarrollado en la Biotecnología actual y muy específicamente en el área de la salud. El reemplazo de válvulas y, en general, el reemplazo vascular con éstos biopolímeros han favorecido el gran avance de la cardiología y la neumología. Los biomateriales han sido durante muchos años, casi que el principio de vida de la odontología en la búsqueda de sustitutos dentales (implantes) o del reemplazo de sus partes a través de materiales biocompatibles dentro de los cuales se estudia su dureza, su adaptabilidad, su interacción tisular y favorecer los procesos de reparación tisular, propiciando a su vez el mejoramiento de las condiciones totales de la cavidad oral y del sistema estomatognático lo cual tiene implicaciones que van mucho mas allá de lo meramente biológico. (NIH, 1996)

Uno de los campos en los cuales más se ha investigado es la búsqueda de sucedáneos de la sangre. La sangre está constituida por células sanguíneas, sales y otras sustancias como proteínas y vitaminas que se encuentran suspendidas en el plasma y tiene múltiples funciones como : transporte de nutrientes y productos de desecho, defensa contra infecciones ; formación de coágulos, transporte de oxígeno, CO<sub>2</sub> y otros gases como el óxido nítrico que juega un papel importante en el mantenimiento de la presión arterial. Otro elemento a considerar son las características que debe poseer un producto que reemplace a la sangre tales como : no tóxico, libre de agentes infecciosos, fácil de transportar, que no desencadene reacciones inmunes, ser compatible con todos los tipos de sangre, permanecer en circulación hasta que el organismo recupere su propia sangre, ser eliminado sin producir efectos secundarios, condiciones de almacenamiento y sobre todo que sea capaz de desarrollar las funciones que realiza la sangre. Casi todos los sucedáneos de la sangre que se han diseñado hasta ahora han privilegiado la



función de transporte de oxígeno sobre las otras. En todos estos años se han generado dos tipos de sustitutos de sangre basados en compuestos químicos de síntesis o en hemoglobina. Los compuestos químicos que se utilizan como transportadores de oxígeno son los perfluorocarbonos (PFCs) que son similares al teflón. El segundo gran grupo está basado en la hemoglobina y hemoderivados. En este campo, la biotecnología hace un aporte importante, ya que la fuente de obtención de hemoglobina es la sangre y por lo tanto su disponibilidad es escasa. Las soluciones biotecnológicas para la producción de hemoglobina humana, involucran la utilización de animales transgénicos, la alteración de la superficie de los eritrocitos para producir donadores universales que no tengan los determinantes antigénicos de los grupos sanguíneos y la encapsulación de la hemoglobina en liposomas. Para que la hemoglobina realice efectivamente el transporte de oxígeno debe estar unida al 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) el cual está presente solo en los glóbulos rojos. Sin el 2,3-DPG la hemoglobina se une al oxígeno en los pulmones pero no es capaz de liberarlo en los tejidos y sufre procesos de autoxidación durante los cuales el hierro se oxida y es incapaz de transportar oxígeno. Una estrategia que se ha implementado para obviar esta situación es la modificación de la hemoglobina a través de la obtención de hemoglobinas entrecruzadas (cros-linking) alfa-alfa, beta-beta o alfa-beta o por conjugación con polietileno glicol (PEG). Estas modificaciones ocasionan un incremento en el tamaño de la hemoglobina y por ende pueden producir daño renal y el tiempo de permanencia en el organismo es elevado. La compañía Somatogen de Boulder Colorado (USA) ha desarrollado una hemoglobina entrecruzada cuyas subunidades son producidas por una *Escherichia coli* recombinante. Los aspectos económicos relacionados con esta investigación no pueden ser dejados de lado, en la actualidad estos sucedáneos de la sangre tienen un costo que es de 2 a 5 veces superior al de la sangre. Los hospitales en Estados Unidos pagan entre US\$60 y US\$85 por una unidad de sangre (500 mL) lo cual es insignificante si se considera que en manejo se invierten US\$ 240 por unidad. El mercado de sustitutos de sangre en los Estados Unidos se estima en US\$ 5 billones anuales. Estos sustitutos se podría utilizar en la conservación de órganos, en el tratamiento de la anemia perniciosa, durante la angioplastia y otros muchos procesos quirúrgicos y traumáticos. (Nucci, 1998)

## 2. Ingeniería tisular

Una de las áreas que tal vez ha tenido mayor desarrollo desde la Biotecnología en éste campo de la salud es el mantenimiento y cultivo de órganos, que ha favorecido a

su vez el gran desarrollo de cultivo de células para el estudio de fenómenos *in vivo* o para el análisis de posibles acciones terapéuticas a aplicar en el hombre. A partir de ellas se ha generado toda un área denominada como Ingeniería Tisular, la cual propicia la aparición de Biomiméticos que buscan imitar, simular o mimetizar los tejidos vivos o algunas acciones que favorezcan la solución de un problema o de una enfermedad específica. La ingeniería tisular es una actividad de carácter multidisciplinaria que se ocupa del desarrollo de implantes biológicos o agentes y medios de remodelación con el propósito de reparar o potenciar la capacidad reparadora de un tejido u órgano. Esta reconstitución o reemplazo se está haciendo, inclusive ahora, a partir de las mismas células del paciente en los casos de sustitución de piel, de cartílago o de mucosas. Así mismo se están desarrollando ya en condiciones *in vitro*, y a partir de tejidos tomados de los mismos pacientes, estructuras que imitan tejidos dentarios que son altamente especializados. (Amar, 1989; Cooper, 1991; Amar, 1995; Ripamonti, 1997). El trabajo en red de los investigadores del área ha dado origen tanto a la American Tissue Repair Society como a la European Tissue Repair Society.

**Tabla 1. Biofármacos aprobados por la FDA**

NOMBRE COMERCIAL	BIOFARMACO	USO APROBADO	COMPAÑÍA	AÑO APROB.
Actimmune	Gamma interferon	Enfermedad granulomatosa crónica	Genentech, Inc.	1990
Activase	Alteplase (tPA) recombinante	Infarto al miocardio Embolia pulmonar aguda	Genentech, Inc.	1987 1990
Adagen	Adenosin deaminasa	Inmunodeficiencia severa infantil	Enzon Inc.	1990
Alferon N	Interferón a	Verrugas genitales	Interferon Sciences Inc.	1989
Betaseron	Interferon b 1-B recombinante	Esclerosis múltiple	Berlex Laboratories/ Chiron Corp	1993
Ceredase	Glucosilceramidasa	Enfermedad de Gaucher tipo 1	Genzyme Corp.	1991
Cerezima	Glucosilceramidasa	Enfermedad de Gaucher tipo 1	Genzyme Corp.	1994
Epogen	Eritropoyetina a	Anemia asociada con falla renal crónica y anemia en pacientes infectados con HIV tratados con Retrovir	Amgen Ltd.	1989
Humatrope	Somatropina	Deficiencia de hormona de crecimiento en niños	Eli Lilly & Co.	1987
Humulina	Insulina humana recombinante	Diabetes	Eli Lilly & Co.	1982
Intron A	Interferon a	Anemia, verrugas genitales, sarcoma de Kaposi asociado a SIDA, hepatitis no A y no B y hepatitis B	Schering-Plough Corp.	1986, 1988, 1988, 1991, 1992
KoGENate	Factor antihemofílico	Transplante de médula ósea	ImmuneX Corp.	1991
Neupogen	Factor estimulante de colonias Granulocitos G-CSF	Neutropenia inducida por quimioterapia	Amgen Ltd.	1994
Oncaspar	L-Asparaginasa	Leucemia linfoblástica aguda	Enzone/Rhône-Poulenc Rorer	1990
Orthoclone	OKT3	Rechazo agudo de transplante de riñón	Ortho Biotech	1986
Procrit	Eritropoyetina a	Anemia asociada con falla renal aguda, anemia en pacientes con HIV tratados con Retrovir y anemia asociada a quimioterapia	Ortho Biotech	1990 1993
Proleukin	IL-2	Carcinoma renal	Chiron Corp.	1992
Protropin	Somatostatina	Inhibidor de hormona de crecimiento en niños	Genentech	1985
Pulmozyme	Desoxirribonucleasa I	Fibrosis cística	Genentech, Inc.	1993
rAHF recombinante	Factor VIII de la coagulación recombinante	Hemofilia	Baxter Healthcare	1992
Roferon-A	Alfa interferon recombinante	Leucemia y sarcoma de Kaposi asociado con SIDA	Hoffman-La Roche	1986, 1988

A nivel mundial, durante 1996 estaban autorizados 32 fármacos recombinantes y se encontraban en fase de ensayo clínico 253. (Stiegler, 1997)

### 3. Transplante de órganos

Con el avance de las técnicas moleculares ha sido posible el aislamiento y caracterización de partículas virales que sin estas metodologías hubiera sido imposible. Un caso interesante de comentar es el reciente descubrimiento efectuado por Stoye y colaboradores del Instituto Nacional de Investigaciones Médicas de los Estados Unidos de dos provirus porcinos (PERV-A y PERV-B) aislados de líneas de células renales porcinas. Esto no pasaría de ser una noticia interesante, de no ser porque es común la utilización de estos cerdos para el transplante de órganos en humanos y, hasta ahora, se pensaba que no existían posibilidades de contaminación cruzada. Ahora se sabe que este tipo de infección puede ocurrir ya que estos provirus son capaces de infectar células humanas. (Stoye, 1997)

### 4. Implantes

En 1931 el Dr Paul Niehans acuña el término de Terapia Celular o Celuloterapia y capitaliza las terapéuticas por antígenos utilizando células frescas de embriones o fetos de especies diferentes : ovinos, porcinos, bovinos y cobayos entre otros. Haciendo una incisión quirúrgica en la zona umbilical se sustituyen los trozos grandes o glándulas enteras que eran colocadas en ese sitio, por tejidos fetales. La primera aplicación exitosa de esta biotecnología la hace con una paciente a la cual le injerta glándula paratiroides, glándula que no es rechazada, no se presentan zonas de inflamación y lo que resulta mas interesante la paciente mejora sus síntomas. Así, a través de la celuloterapia se implantan toda clase de tejidos, órganos o glándulas fetales o juveniles. La utilización de estos implantes podría ocasionar una serie de efectos adversos como: la posibilidad de inocular en el hombre virus lentos (retrovirus), priones desconocidos procedentes de diversas especies animales ; transmisión de zoonosis o posibles reacciones alérgicas y anafilácticas para los pacientes. Es interesante mencionar que el microcolgajo conserva su estructura pero no su función y por ello no desencadena procesos inmunes pero conserva su especificidad de órgano y por tanto es reconocido por los macrófagos y los neutrófilos pero no por los linfocitos T ni por el factor de histocompatibilidad mayor. Hasta el momento se han efectuado a nivel mundial mas de 40 millones de tratamientos para patologías degenerativas como : reumatismo, artrosis, esclerodermia, esclerosis en placas, psoriasis, enfermedad de Down, enfermedades nerviosas degenerativas, arterioesclerosis, enfermedades autoinmunes, dermatológicas, cardiovasculares, glandulares y del envejecimiento, sin que se hayan informado complicaciones. De acuerdo con el «principio de hallstedt» las células implantadas migran hacia el lugar en el que son necesarias, lo cual no ha sido probado, pero existen trabajos investigativos que apuntan hacia esa dirección. (Erenfryd, 1997)

### 5. Terapia génica

Como se sabe existen mas de 3000 enfermedades en los seres humanos que son de naturaleza genética y desde luego es necesario clarificar la causa y diseñar tratamientos efectivos para lo cual se propone la terapia génica somática. El principio básico de la terapia génica es introducir un casete de expresión de un gene terapéutico (casi siempre se utiliza un cDNA) en un tejido u órgano blanco, en el cual el gene se expresa y se forma una molécula de RNA intracelular biológicamente activa (antisentido, ribozima o aptamero) o una proteína. Esta proteína puede actuar a través de mecanismos intracelulares (por ejemplo, en el caso de un producto anti-oncogene) o como una proteína difusible a través de mecanismos autocrino, paracrino o endocrino (hormonas, citoquinas, factores de crecimiento). En este último caso se espera que la transferencia del gene ofrezca mejores resultados que la administración sistémica de la correspondiente proteína recombinante. (Mayaux, 1996). El éxito de la terapia génica depende en gran medida de contar con un vector apropiado capaz de transferir eficientemente el gene de interés.

La tuberculosis (TB) es una enfermedad que sigue siendo un problema serio de salud pública. En los Estados Unidos y debido a la emergencia del HIV se ha presentado como una patología sobreagregada con mas de 40 000 casos de TB en los últimos 10 años, con característica de ser resistente a los fármacos de elección. Este tipo de TB multirresistente está asociada a una elevada mortalidad. Una forma de prevención de esta patología es la utilización de la vacuna BCG que es una cepa atenuada de BT bovina, pero no confiere una protección absoluta a pesar de dar positiva la prueba de la tuberculina. Se han propuesto dos estrategias de terapia génica, una de ellas implica el uso de genes de *Mycobacterium* en forma de vacuna de DNA para estimular la respuesta inmune y la otra estrategia hace referencia al uso del gene que codifica para citoquinas lo cual incrementa las defensas del huésped. La vacuna a base de DNA puede ser administrada intramuscularmente y produce inmunidad celular y humoral. El constructo de DNA puede ser propagado en bacterias y posteriormente purificado de las endotoxinas contaminantes. De esta forma es posible contar con un material estandarizado con el cual se adelantan las pruebas clínicas correspondientes. Hasta el momento se ha podido demostrar su eficacia en ratones.

Por otro lado la transferencia del gene que codifica para citoquinas pone de manifiesto el papel de los linfocitos CD4+ en la defensa del huésped, especialmente importante en individuos con HIV que tienen un menor número de linfocitos CD4+ y por lo tanto presentan una elevada incidencia de infecciones. La principal citoquina producida y secretada por los linfocitos CD4+ es el interferon g. La formación adecuada de granuloma que

pueda controlar la infección por *Mycobacterium* depende del interferon que es capaz de activar los macrófagos alveolares que secretan el factor de necrosis tumoral (TNF) y otras citoquinas así como quimoquinas que reclutan neutrófilos del torrente sanguíneo hacia los pulmones. Se ha encontrado que la transferencia adenoviral del gene que codifica para interferon murino da como resultado una significativa atenuación de las lesiones tuberculosas en ratones. (Kolls, 1998)

La terapia génica ha sido utilizada para inhibir el HIV mediante la introducción en las células de un nuevo gene que interfiere con las proteínas reguladoras virales. Esta terapia también se ha utilizado para introducir un gene que protege a las células de la infección por HIV. Este tipo de aproximaciones se encuentran en desarrollo.

Las técnicas de la biología molecular han sido definitivas para aclarar el mecanismo de infección del VIH. El virus inicia la infección penetrando en los macrófagos a través de la utilización de la proteína gp120 para unirse a dos receptores de los macrófagos : el CD4 y CCR5. Una vez en los macrófagos, el VIH sintetiza grandes cantidades de virus que desafían al sistema inmunitario. Con el tiempo puede presentarse una alteración en el gen que codifica para la proteína gp-120 y con ello una afinidad mayor por el receptor CXCR4 presente en los linfocitos T, dando inicio a la infección sobre linfocitos T (variantes T-trópicas) que concluye con la muerte de las células T CD4 hasta menos de 200 células por milímetro cúbico de sangre (niveles normales : 1000 por mm<sup>3</sup>). Los correceptores para el VIH (CCR5 y CXCR4) son los responsables de las diferencias en susceptibilidad al virus. Al realizar un análisis de los genes que codifican para estos receptores se encontró que el gen CXCR4 siempre presentaba la misma secuencia pero en 1996 Mary

Carrington descubrió que uno de cada cinco individuos presentaba una variante del gen CCR5. La variante mas frecuente tenía 32 nucleótidos menos. La mutación en los dos genes que codifican para el CCR5 proporciona una protección completa contra el VIH, mientras que de un alelo mutante y otro normal proporciona una protección parcial al reducir a la mitad el número de proteínas CCR5 funcionales que sintetiza la célula. Este descubrimiento abre la puerta para plantear una posible terapia : destruir todas las células sanguíneas infectadas por el virus y reintroducirle al paciente médula ósea de donantes homocigóticos para la delección del gene CCR5. Sin embargo, hay que considerar los riesgos por diferencias inmunitarias entre el donante y el receptor que pueden ocasionar rechazo. Habría que comentar que en los últimos meses han aparecido informes en la literatura sobre la existencia de individuos que son homocigóticos para la delección infectados con el VIH. Una posible explicación para este hecho podría ser que el agente sea una estirpe T-trópica insólita, muy virulento que suele aparecer en los últimos estadios de la infección del VIH. (O'Brien, 1997 ; Dean, 1996 ; Rong, 1996)

Como hemos podido apreciar biotecnología y salud son dos elementos que están presentes en la medicina de hoy y con mayor intensidad lo estarán en la medicina del futuro, si tomamos en consideración que para el año 2005 estará secuenciado todo el genoma humano y patologías como la inmunodeficiencia severa combinada, la hemofilia A y B, la hipercolesterolemia familiar, la fibrosis quística, algunas hemoglobinopatías, la deficiencia de  $\alpha$ 1 antitripsina, la enfermedad de Gaucher, cáncer, el mal de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, arteroesclerosis, SIDA, y hepatitis B entre otras podrán ser curadas utilizando la terapia génica, la cual dejará de ser un procedimiento azaroso para convertirse en una forma natural de curar enfermedades.

## BIBLIOGRAFIA

- Abou, C.** 1997. Un géne pour augmenter la masse musculaire. Biofutur 173. Dic. 10-11
- Alberdi, J.L., Santamaría, N.O., Hernández, D.A.** 1990. Effects of deltamethrin and ethanol on survival and mechanical response of *Daphnia spinulata*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 45, 266-271
- Amar, S., Luo, W.** 1989. Amelogenin gene expression in mouse incisor heterotopic recombinations» *Differentiation* 41, 56-61
- Amar, S., Karcher-Djuricic, R.** 1995. Root analog and crown analog mouse incisor dentin promotes ameloblast differentiation : an evidence of absence of heterotypic cell contacts. Proc. Finn. Dent. Soc. 83, 225-236
- Budnick, M.O., Chait, M.E** 1994. Natural products in biotechnology. Pharmaceutical Manufacturing International. Biotechnology Supplement. 1994, 19-22
- Cabra, J., Sánchez, M.** 1997. Biotecnología para el desarrollo en Colombia. Innovación y Ciencia, VI .3. 44-52
- Chang, J.C., Kan, Y.W.** 1982. A Sensitive new prenatal test for sickle cell anemia. N. Engl. J. Med. 307. 30-32
- Cooper, M.L.** 1991. in vivo optimization of a living dermal substitute employing cultured human fibroblasts on a biodegradable polyglycolic acid or polygalactin mesh. Biomaterials 12, 243-249
- Dean, M.** 1996. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CCR5 structural gene. Science. 273. 1856-1862
- Draghia-Akli, R** 1997. Hypothalamic GHRH stimuli GH production. Nature Biotechnol. 15, 1285-1289
- Ellens, D., Harrison, R.** 1996. Biogenics - Future market dynamics. Pharmaceutical Biotechnology International 7-10
- Ellis, D.D., Zeldin, E.L., Bradhagen, M., Russin, W.A., McCown, B.H.** 1996. Taxol production in nodule culture of *Taxus*. J. Nat. Prod. 59. 3. 246-250
- Erenfryd, A., Caleque, S.** 1997. Terapéuticas celular, macromolecular y biológicas organoterapias. Biomedicina. Enero-Febrero, 16-21
- Grim, M.** 1996. A systems approach to biocatalysis. Pharmaceutical Manufacturing International. 75-76
- Hacking, A.J.** 1986. Economic aspects of biotechnology, Cambridge University Press. London. 14
- Haro, V.I.** 1997. Péptidos sintéticos contra el virus de la hepatitis A. Investigación y Ciencia. 254, 28-29
- INTERNATIONAL STANDARD.** 1984. Water quality - determination of the acute lethal of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cypridae)]. ISO/7346/3. Ginebra. Suiza
- INTERNATIONAL STANDARD.** 1989. Water quality - determination of the inhibition of the morbidity of *Daphnia magna* starus (Cladocera,

- Crustacea). ISO/6341. Ginebra. Suiza
- Kolls, J.K.** 1998. Gene therapy. *Science & Medicine*. 5.2. 4-5
- Léger, C.** 1997. Une enzyme glutonnr por la pomme de terre. *Biofutur*. 173. Dic. 9.
- Lewis, M.A.** 1986. Comparison of the effects of surfactants on freshwater phytoplankton communities in experimental enclosures and on algal population growth in the laboratory. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 5. 319-332
- Mayaux, J-F.** 1996. Gene and cell therapy - an overview. *Pharmaceutical Biotechnology International*. 41-44
- McArdle, J.** 1997/1998. Alternatives to ascites production of monoclonal antibodies. *Animal Welfare Information Center Newsletter*. 8. 3-4. 1-2
- Mephan, T.B., Combes, R.D., Balls, M.** 1998. The use of transgenic animals in the European Union. *ATLA*. 26. 21-43
- Morrison, R.T., Boyd, R.N.** 1985. *Química Orgánica*. Fondo Educativo Internamericano. México D.F. 1375
- NIH.** 1996. Biomimetucs tissue engineering and biomaterials. Workshop Report. USA. Sept.
- Nucci, M.L., Abuchowski, A.** 1998. The search of blood substitutes. *Scientific American*. 278. 2. 60-65
- O'Brien, S.J., Dean, M.** 1997. Genes que oponen resistencia al SIDA. *Investigación y Ciencia*. 255. 6-14
- OMS.** 1978. Principles and methods for evaluating the toxicity of chemical. Part I. *Environmental Health Criteria* 6. WHO, Ginebra. 272
- Prusiner, S.B.** 1997. Prion diseases and the BSE crisis. *Science*. 278. 245-251
- Quevedo, E.** 1997. Contexto socio histórico del proceso salud enfermedad. Cátedra Manuel Ancízar. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Rappuoli, R., Abrignani, S., Grandi, G.** 1997. Las vacunas : los fármacos del futuro. *Investigación y Ciencia*. 254. 62-70
- Ripamonti, U.** 1997. Tissue engineering, morphogenesis and regeneration of the periodontal tissues by bone morphogenetic proteins. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 8. 2. 154-163
- Rodgers, P., Cubitt, I., Hamilton, W., Wilson, M.** 1996. Plant-based production of vaccines and therapeutic proteins. *Pharmaceutical Biotechnology International* 17-22
- Rong, L.** 1996. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV infection. *Cell*. 86. 3. 367-377
- Sáenz, M.E., Accorinti, J., Tortorelli, M.C.** 1993. Toxicity of paraquat to a green alga *Scenedesmus acutus*. *J. Environ. Sci. Health*. B28. 2. 193-204
- Steigler, G., Kresse, G-B, Buckel, P.** 1997. Biotecnología de fármacos. *Investigación y Ciencia*. 254. 52-61
- Stoye, J.P. Le Tessier, P., Takeuchi, Y., Patience C.** 1997. Two sets of human-tropic pig retrovirus. *Nature*. 389. 681-682
- Tabor, J.M.** 1989. Genetic engineering technology in industrial pharmacy. *Principles and Applications*. Marcel Dekker Inc. New York. 219-298
- Tortorelli, M.C., Hernández, D.A., Rey Vázquez, G., Salibián, A.** 1990. Effects of paraquat on mortality and cardiorespiratory function of catfish fry *Plecostomus commersoni*. *Arch. Environ, Contam. Toxicol*. 19. 523-529
- Vittozzi, L., De Angelis, G.** 1991. A critical review of comparative acute toxicity data on freshwater fish. *Aquatic Toxicology* 19. 167-204
- Walsh, G.E., Deans, CH.H., McLaughlin, L.L.** 1987. Comparison of the EC50s of algal toxicity test calculated by four methods. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 6. 767-770.

# SCIENTIFIC PRESS SERVICES

TRANSLATION AND EDITION OF  
SCIENTIFIC MATERIAL:  
BIOMEDICAL, BIOLOGICAL  
AND BIOTECHNOLOGICAL SCIENCES.  
SPANISH - ENGLISH  
ENGLISH - SPANISH



TRADUCCION Y EDICION DE  
TEXTOS CIENTIFICOS  
CIENCIAS BIOMEDICAS,  
BIOLOGICAS Y BIOTECNOLOGICAS  
ESPAÑOL - INGLES,  
INGLES - ESPAÑOL

**TELEFONOS: 312 71 41 - 571 68 31 - SANTAFÉ DE BOGOTÁ D.C.**