

---

# Contribución del biólogo al diseño de fármacos. El caso especial de la ingeniería genética

---

R. González-Duarte

Departamento de Genética. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona.

La aplicación de las técnicas del DNA recombinante, o ingeniería genética, ha permitido realizar en los últimos años avances muy considerables en el conocimiento científico y especialmente en las áreas relacionadas con la biología, la biomedicina y la genética molecular. En el aspecto aplicado esta metodología está permitiendo abordar cuestiones relevantes íntimamente ligadas a la calidad de vida, tales como la mejora de la cantidad y calidad de la producción vegetal, la transferencia de genes funcionales a organismos defectivos, la síntesis de vacunas hasta ahora inexistentes, la producción de compuestos de valor terapéutico y el diagnóstico prenatal de enfermedades hereditarias. La potencialidad de esta tecnología radica esencialmente en que permite obtener muchas copias de DNA idénticas a una molécula original (clonación de genes) o de sus productos de expresión. Esto se logra enlazando el DNA que se desea amplificar a otra molécula de DNA (vector) capaz de asegurar la introducción, mantenimiento y reproducción en el interior de células foráneas especialmente preparadas para recibir el nuevo material hereditario. Así, se puede obtener una cantidad suficiente de DNA para abordar estudios estructurales o funcionales. Además, mediante la manipulación *in vitro* del DNA se obtienen nuevas combinaciones de genes aptas para abordar cuestiones relativas a la expresión génica y para obtener moléculas «híbridas» que han incorporado nuevas propiedades funcionales.

## **Ingeniería genética y medicina**

Una de las contribuciones más importantes de la ingeniería genética directamente relacionada con la medicina ha consistido en revelar las causas moleculares de algunas enfermedades hereditarias, facilitándose así un diagnóstico difícil o imposible de alcanzar con las técnicas

bioquímicas convencionales. El estudio del DNA revela la causa original de la deficiencia, permitiendo la comparación directa entre el gen normal y el defectivo con independencia de su expresión y, por tanto, del análisis del producto. Para ello es necesario disponer de un fragmento de DNA o sonda, complementario a la secuencia que se ha de analizar. Sin embargo, existen aún hoy muchos casos de enfermedades hereditarias descritas clínicamente pero no asociadas a un gen determinado, de las cuales se desconoce además el producto génico y la naturaleza de la alteración. En algunos de estos casos, y cada día aumenta la frecuencia de éstos, la ingeniería genética permite realizar un análisis indirecto mediante el estudio de fragmentos de DNA que presentan un polimorfismo respecto a su longitud (RFLP) situados muy próximos al gen en cuestión. Debido a su proximidad o elevado grado de ligamiento, la enfermedad controlada por el gen «desconocido» se hereda de acuerdo con una de las variantes polimórficas presente en una familia determinada. El análisis del linaje familiar permite asociar el gen defectivo a un fragmento de restricción y, por tanto, a un cromosoma determinado y así, la presencia o la ausencia del fragmento «marcador» será la clave para realizar un diagnóstico prenatal. Algunas enfermedades hereditarias diagnosticables por este método son, entre otras, las  $\alpha$  y  $\beta$ -talasemias, la enfermedad de Huntington, la retinitis pigmentaria, la fibrosis quística, las hemofilias y la miopatía de Duchenne (fig. 1).

## **Aportaciones de la ingeniería genética a la terapéutica**

Entre las aplicaciones de la tecnología del DNA recombinante destaca por su valor terapéutico, comercial y clínico, la síntesis de compuestos químicos esenciales para el desarrollo de la vida del organismo y cuya ausencia total o parcial

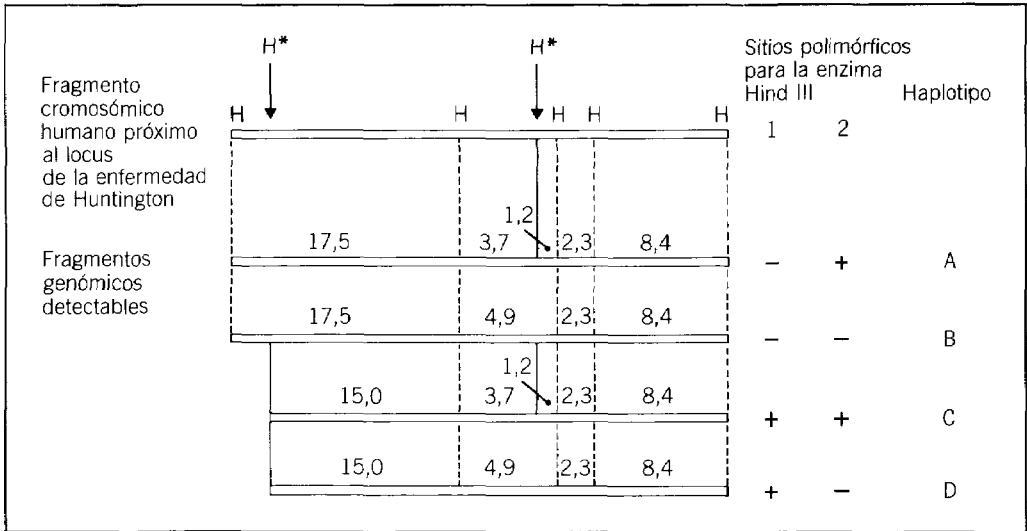


Figura 1. Localización de las dianas de restricción de la enzima HindIII (H) de un fragmento cromosómico humano de 17,6 kb utilizado para el diagnóstico de la enfermedad de Huntington. Las dianas polimórficas están señaladas con un asterisco (\*). El alelo más frecuente del sitio 1 produce un fragmento de 17,5 kb y el del sitio 2 determina dos fragmentos de 3,7 y 1,2 kb respectivamente. Se han definido 4 haplotipos denominados A, B, C y D, según la presencia (+) o ausencia (-) de las dianas de restricción. El análisis de estos polimorfismos en dos estirpes humanas ha permitido asociar la enfermedad de Huntington, en un caso con el haplotipo A y en otro con el haplotipo C.

conlleva alteraciones graves. En este caso se utilizan los microorganismos o células eucariotas para sintetizar y almacenar productos como la insulina, la hormona del crecimiento o los interferones humanos. La síntesis de la insulina humana por bacterias, uno de los primeros logros de la ingeniería genética en este campo, permite hoy suministrar a los diabéticos la misma hormona que sintetizan los individuos normales. Se evitan así los problemas de hipersensibilidad asociados a la presencia de una molécula que el sistema inmunológico reconoce como foránea, caso de suministrar insulinas de ternera o de cerdo, y se optimiza la funcionalidad del producto. Una de las primeras estrategias experimentales para la síntesis de la insulina consistió en sintetizar *in vitro* y por separado el DNA correspondiente a la cadena A y B de la insulina funcional, que se obtienen *in vivo* a partir de un producto precursor más complejo. Se introdujeron estas secuencias de DNA en plásmidos de *E. coli* y al lado de un fragmento del operón lactosa que contenía las secuencias necesarias para que su expresión pudiera ser regulada, es decir, inducida en presencia de lactosa en el medio de cultivo. Se sintetiza así una molécula «hí-

brida» que contiene los primeros aminoácidos de la  $\beta$ -galactosidasa, el primer gen estructural del operón lactosa, y después los aminoácidos correspondientes a la cadena A o B. La acumulación de grandes cantidades de estos productos en el interior de las células favorece enormemente su purificación. La insulina activa se sintetiza enlazando las cadenas A con las cadenas B después de seguir el tratamiento químico adecuado (fig. 2). Esta insulina, comercializada hoy por una industria farmacéutica americana, es indistinguible de la humana y, por tanto, es la más adecuada para paliar los efectos de la diabetes.

### Otras aportaciones de la ingeniería genética a la medicina

Finalmente, la combinación de la tecnología de la ingeniería genética con la de obtención de hibridomas ha permitido construir anticuerpos «quimera» que combinan la elevada especificidad de enlace a un determinante antigénico, y que proceden del ratón o la rata, con las características estructurales de las inmunoglobulinas humanas. A pesar de que se han invertido gran-

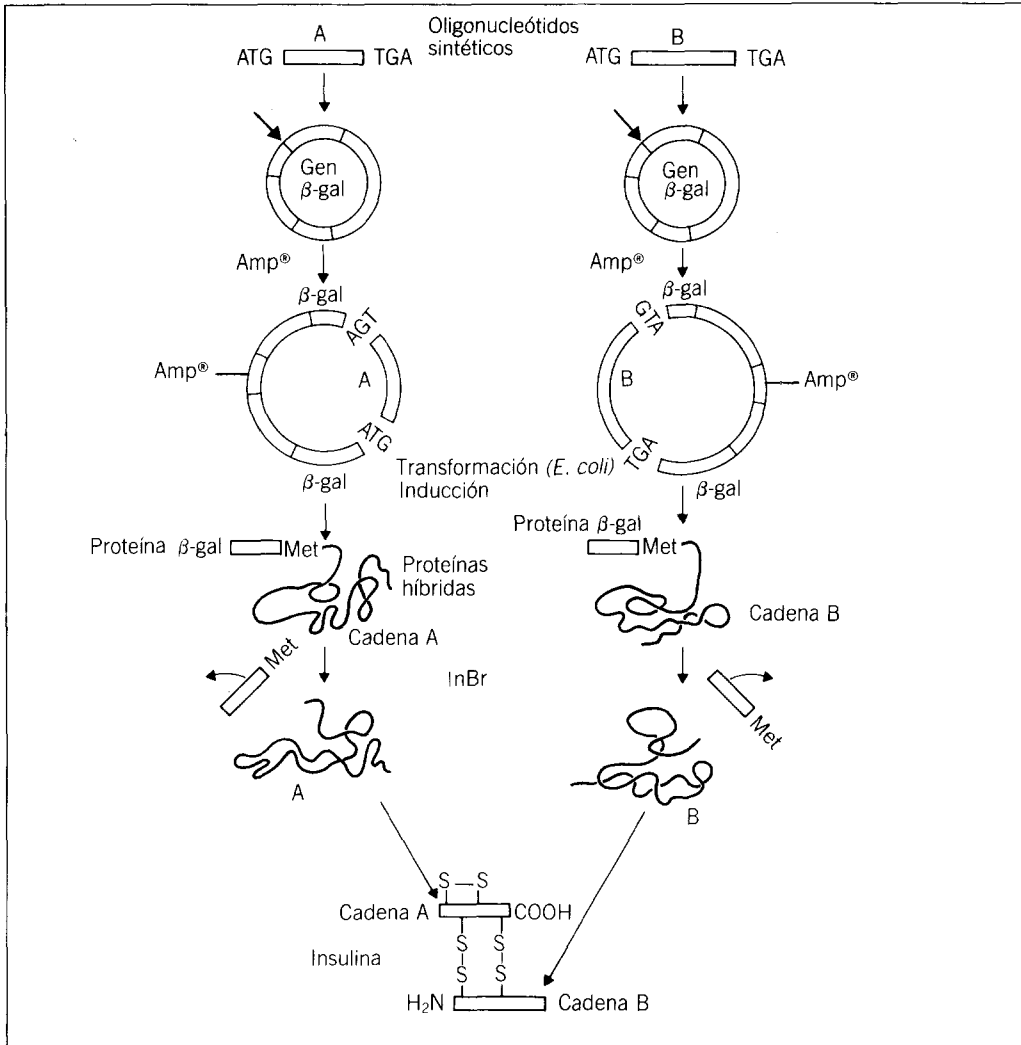


Figura 2. Esquema de uno de los procesos utilizados para la síntesis de insulina humana. Los fragmentos de DNA A y B se sintetizaron químicamente según el método de Khorana. El enlace de A o B a un plásmido bacteriano permite la replicación del DNA recombinante en el interior de E. coli. Para la expresión de estos fragmentos se utilizaron las secuencias reguladoras del operón lactosa de E. coli. Se acumulan grandes cantidades de cadenas A y B en el interior de las células bacterianas. El enlace de los fragmentos A con B produce insulina funcional.

des esfuerzos, la obtención de anticuerpos monoclonales humanos presenta, aún hoy, problemas técnicos insalvables. Por otra parte, la utilización de anticuerpos monoclonales de roedores en humanos a menudo va acompañada de problemas médicos inherentes al reconocimiento, por parte del sistema inmunológico, de una molécula extraña al organismo.

En otros casos se han obtenido anticuerpos «híbridos» que poseen nuevas propiedades funcionales introduciendo genes de las inmunoglobulinas previamente manipulados, en células mielómicas. Estas nuevas propiedades son, en general, actividades enzimáticas o síntesis de toxinas que permiten, en el primer caso, la localización y cuantificación de un antígeno y en el

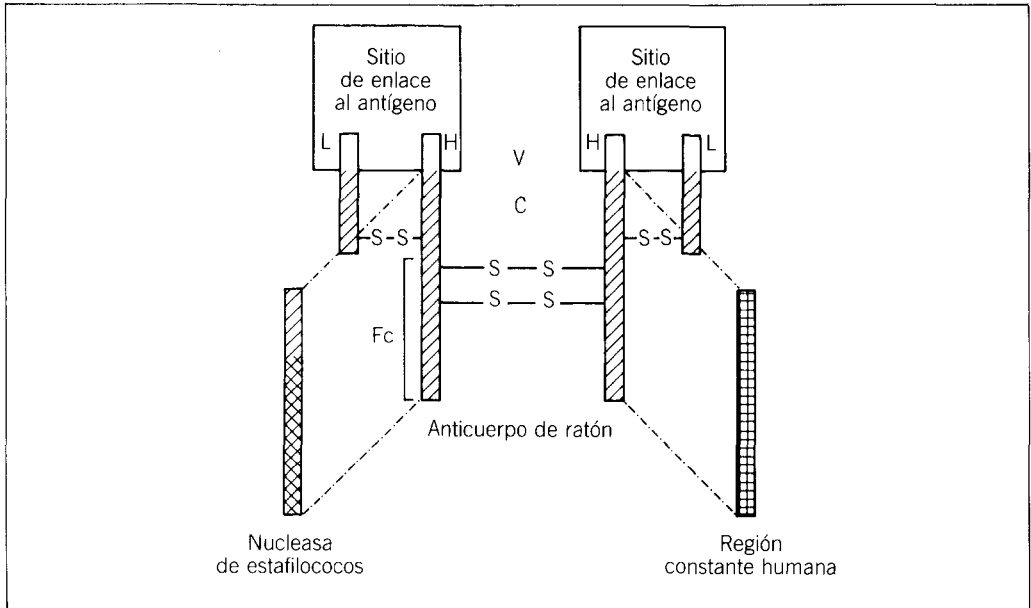


Figura 3. Diagrama de una molécula de anticuerpo de ratón formada por dos cadenas ligeras (L) y dos pesadas (H). Cada cadena presenta una región variable (V) y una constante (C). La región constante especifica el tipo de cadena pesada y le confiere características funcionales específicas. Se ilustra además la sustitución del dominio C de la cadena pesada por la región equivalente de una cadena pesada humana o por una nueva actividad enzimática.

segundo la destrucción de la célula portadora del mismo. Las aplicaciones potenciales, en la actualidad en vías de desarrollo, derivadas de la combinación de ambas tecnologías son enormes, tanto en biología como en medicina: entre otros, en los procesos de purificación de productos de expresión de genes clonados, en reacciones de inmunoanálisis y para la localización de antígenos o de productos quimioterapéuticos en células tumorales (fig. 3).

Las técnicas desarrolladas recientemente para la obtención de células somáticas híbridas en combinación con la ingeniería genética han permitido avanzar enormemente en el mapeo de los cromosomas humanos. La localización cromosómica de los genes es un dato esencial en relación a su posterior análisis molecular. En los últimos años, utilizando estas técnicas, se han mapeado más de 900 genes en los cromosomas humanos; de éstos, se han clonado unos 250 y se dispone de más de 800 sondas específicas. No es exagerado afirmar que la aplicación de la tecnología de la ingeniería genética en medicina representará uno de los avances más importantes de este siglo, tanto en el diagnóstico como

en la terapéutica y constituye uno de los casos más evidentes de la aportación positiva de la ciencia a la calidad de vida.

#### BIBLIOGRAFIA SELECCIONADA

- GUSELLA JF, WEXLER NS, CONNEALLY PM et al. A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington's disease. *Nature*, 1983; 306: 234-238.
- HODGKINSON S, SCAMBLER P. Recombinant DNA techniques in diagnostic and preventive medicine. *Bioessays*, 1984; 1: 12-15.
- HUMPHRIES S, BARNI W. Gene analysis and its role in predicting susceptibility to disease. *Bioessays*, 1985; 3: 104-108.
- LITTLE PFR. DNA analysis and the antenatal diagnosis of hemoglobinopathies. En: Williamson R, ed. *Genetic engineering 1*. Academic Press 1981; 61-100.
- MOTULSKY A. Impact of genetic manipulation on society and medicine. *Science*, 1983; 219: 135-140.
- NEUBERGER MS, WILLIAMS GT, FOX RO. Recombinant antibodies possessing novel effector functions. *Nature*, 1984; 312: 604-608.
- WILLIAMSON B. Gene therapy. *Nature*, 1982; 298: 416-418.

## DISCUSION

J. GARZÓN: Quisiera hacer algún comentario sobre la posible proyección de la ingeniería genética dentro del área de la farmacología o de la génesis de nuevos fármacos. Yo distingo que este tipo de estudios tiene dos fases bien claras, una que incluye investigación básica, ideas, desarrollo, y una segunda que es la mera técnica repetitiva, la cual pienso que será la que tendrá repercusión en la industria. La participación de un biólogo o de una persona pensante es requerida en la primera fase, pero la segunda ¿hasta qué punto no pasa a ser masificada y puede ser hecha meramente por cualquier técnico? ¿Dónde está la participación del biólogo dentro del desarrollo de un fármaco o dentro de la industria que utiliza estas técnicas para su explotación?

R. GONZÁLEZ: Evidentemente, en esta segunda parte el papel del biólogo es secundario y sería triste repetir exactamente un procedimiento que puede realizar un técnico siguiendo un protocolo. Yo creo que el papel del biólogo tiene mucho más sentido en la investigación básica en este aspecto de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas, en la obtención de moléculas que puedan tener un interés.

R. FLOS: En esta primera fase que se hablaba, yo creo que se puede hablar de la primacía del biólogo. Es decir, no solamente por su formación, sino incluso por su mentalidad. En esta primera fase el biólogo es primordial, pero creo que no hay que olvidar la segunda fase. Estoy de acuerdo en que para determinados biólogos puede ser muy triste repetir siempre una misma técnica. Sin embargo, éste es un trabajo. Es decir, yo creo que el biólogo hoy no puede rechazar determinados trabajos porque sean digamos aburridos. El campo del biólogo es muy amplio, pero no todos los biólogos van a ser innovadores en un campo tan fascinante como la ingeniería genética.

G. NICOLÁS: A mi modo de ver, el campo de la biotecnología o ingeniería genética es uno de los campos en que los biólogos no podemos dejar escapar la ocasión, ya que está demostrado que la formación del biólogo en España es suficientemente buena como para permitir que surjan grandes figuras en este campo. España es un país que siempre se ha dejado

influenciar o donde se ha empezado a poner algo de moda tras la estela de una gran figura que hemos tenido en algún campo. Se puso de moda la bioquímica cuando le dieron el Premio Nobel a Severo Ochoa, y se está poniendo de moda el golf con Severiano Ballesteros, como se puso de moda el tenis con Santana. Tenemos ahora mismo un grupo de investigadores en EE.UU. y creo que no se debería desaprovechar esta ocasión. El camino que están abriendo en el mundo Mariano Barbacid y Eugenio Santos debe hacernos ver que el biólogo español tiene una formación buena como para empezar a trabajar y hacer cosas tremendamente importantes en este campo.

R. GONZÁLEZ: Quizá sea oportuno considerar pragmáticamente lo que realmente es posible hacer en este país. Yo admiro realmente al equipo de Barbacid y Santos, he leído sus trabajos, pero el problema es que este país no está preparado para recibir a esta gente.

En cambio, a mi modo de ver hay otros campos donde, desde un punto de vista realista, el biólogo podría encajar muy bien y que a la larga tienen que desarrollarse en España. Y para mí uno de éstos es, claramente, el diagnóstico prenatal que hoy día preocupa a muchísima gente. Hay enfermedades cuya frecuencia en la población es del orden de uno a dos por 1.000 o uno en 6.000 y esto representa un número realmente elevado. En los hospitales tendrían que iniciarse ya unas secciones dirigidas a un diagnóstico prenatal serio, no sólo destinado a mongolismos o mirando translocaciones de Filadelfia, sino estudiando las alteraciones a nivel del DNA. Esto es relativamente sencillo porque se trata de purificar un DNA a partir de una célula del cultivo. Yo creo que cualquier hospital de este país puede hacerlo, y esto no se hace.

C. BELLVER: Quisiera hacer un comentario referente a la industria farmacéutica, que no acaba de entrar en este campo de la biotecnología. Pienso que principalmente es debido a que no dé sus frutos a un corto plazo. En veterinaria sí se están haciendo cosas, y de hecho hay colaboraciones entre empresas, laboratorios de veterinaria y el CBM.