

# ORIGENES Y BASES DE LA REVOLUCION BIOTECNOLOGICA

**María Dolores Ochando González**

Profesora de Genética  
Universidad Complutense de Madrid

## INTRODUCCION

Para introducirnos en el tema que nos ocupa, la Biotecnología, concepto hoy revolucionario y casi mágico, pero también y sobre todo concepto que suscita los más variados y contradictorios sentimientos, desearía empezar con una breve introducción histórico-conceptual. Querría pasar después a ofrecer una panorámica global del estado actual de la cuestión, y detenerme en los casos concretos que más interés, polémica o perspectivas de futuro ofrecen.

No es mi propósito hacer una incursión superficial en el mundo de la ciencia-ficción, aunque quizás a nuestros mismos padres seguramente les parecería de ciencia-ficción las realidades de hoy, los logros hoy conseguidos. Si me gustaría, sin embargo, plantear tentativamente cuáles son las perspectivas de futuro. Tampoco es el propósito de esta conferencia abordar las consideraciones ético-sociales que estas nuevas tecnologías biológicas despiertan. Ese objetivo habrán de cubrirlo los otros dos conferenciantes, y generarán, sin duda, cierta polémica para la discusión posterior. Ese es, en definitiva, el interés último de esta reunión. Mi papel, por tanto, es meramente introductorio, pero necesario, ya que una reflexión moral, ética, social en una palabra, carecería de rigor si se planteara aisladamente del sustrato material científico que la origina.

Desde 1976, en que se presentan en distintos países los primeros informes sobre biotecnologías realizados bien por grupos de investigadores o por relevantes instituciones, con el fin de reclamar la atención o estimular y orientar las investigaciones, así como analizar sus posibles consecuencias y aplicabilidad, se ha puesto de manifiesto la dificultad de una definición operativa de este campo científico. Algo que en todo caso es necesario internacionalmente, tanto por razones científicas como por implicaciones económico-industriales, legales, etcétera. El informe de la OCDE de 1982 (*Biotecnología. Perspectivas y Tendencias*

*Internacionales*) plantea la distinción entre la biotecnología misma y las actividades en que ésta incide o puede incidir. Según la opinión que los expertos manifiestan en este informe, la Biotecnología no es una industria (aunque uno de sus puntos más importantes sea la aplicación industrial), sino una actividad científica. Se advierte también en el informe del peligro de una definición restrictiva. A menudo, y sobre todo en el mundo impreso de la divulgación, se ha reducido la Biotecnología a la Ingeniería Genética Molecular. El mencionado informe propone la siguiente definición de Biotecnología:

«la aplicación de principios científicos y de ingeniería al procesamiento de materiales por medio de agentes biológicos, con el fin de obtener bienes y servicios».

Los «materiales» incluyen tanto los de origen orgánico como inorgánico. Los «agentes biológicos» son, fundamentalmente, microorganismos y células —vegetales, animales, humanas—. Los «principios científicos» se nutren de muy diversas ramas de las Ciencias Biológicas (bioquímica, microbiología, genética, fundamentalmente), química e ingeniería química.

En este mismo año —1982—, el libro publicado por la Office of Technology Assessment, de EE.UU. (*Genetic Technology: A new frontier*), define Biotecnología como «el uso de organismos vivos o sus componentes en procesos industriales».

Pero vamos a ser heterodoxos en aras del interés que hoy nos reúne. Vamos a considerar fundamentalmente la «manipulación genética», lejos de su sentido peyorativo, como modificación y/o construcción de genomas (información hereditaria completa de una especie u organismo) y/o genes (unidades hereditarias que «informan» de los atributos biológicos propios de la especie), porque en ello se centra el mayor interés, el mayor desarrollo y crecimiento, y la mayor polémica ético-social. Es la manipulación de la vida misma, es crearse dioses. Es sabido, además, que todo intento de actuar como dioses ha sido considerado histórico-mitológicamente como causa de castigo y destrucción. Y ya las voces se han levantado, recordemos el primer pecado de soberbia, recordemos al ángel caído.

Sin embargo, antes de cualquier posible «manipulación», se necesita el «conocimiento». Procedamos a describir la evolución de ese conocimiento.

## HISTORIA

Podríamos decir que ya los habitantes de lo que hoy llamamos Oriente Próximo, en la Edad de Piedra, fueron los primeros en practicar la «manipulación genética». Se sabe, por la información fósil de que disponemos, que realizaban la cría selectiva de animales domésticos y plantas cultivadas. Elegían para reproducir sus animales y cosechas,

aquellos individuos —plantas o animales— que presentaban las mejores características deseadas. Por supuesto, en un proceso meramente intuitivo, del que hoy conocemos además su base científica incluso a nivel molecular. Durante muchos siglos, esta aproximación ha sido puramente intuitiva pero ciertamente eficaz.

Pero la utilización «tecnológica» de seres vivos más antigua se debe a los babilonios, de los que sabemos que seis mil años antes de Cristo fabricaban cerveza por fermentación microbiana. Tres mil años a. de C., los sumerios eran capaces de fabricar casi 20 tipos de cerveza, y los egipcios fermentaban pan. O sea, miles de años antes de que se «descubriera» la existencia de microorganismos —en el siglo XVII, por A. von Leuwenhoek—, éstos eran utilizados ya por el hombre.

Concretémonos más, siquiera sea en una breve historia de las ideas hereditarias y del nacimiento y desarrollo de la Genética.

La primera teoría conocida sobre la herencia la debemos a Hipócrates (siglo V a. de C.), que habla de pequeños elementos representativos de todas las partes del cuerpo paterno concentrados en el semen. Aristóteles (384-322 a. de C.) presenta una visión filosófica, pero interesante, penetrante, del tema: dentro de su conocida teoría sobre la potencia de lo que algo es capaz de llegar a ser, dice que el semen aporta un «plan» según el cual se «modelará» la sangre informe de la madre. La sustancia la proporciona la madre, la información, el padre.

Pero durante más de veinte siglos después, se olvidan estas ideas y se acepta la generación espontánea como dogma.

Se ha de esperar hasta el siglo XVIII, cuando ya se conoce la existencia de las células sexuales, para la aparición de una idea realmente simple en torno a la herencia: el preformacionismo. Según éste, el proceso de desarrollo es un simple desplegarse de un diminuto «homúnculo», tal como sucede con las conocidas muñecas rusas.

Y en íntima relación con las revolucionarias ideas evolutivas del siglo XIX, surge otra noción igualmente errónea respecto a la herencia (partidario de la cual fue Darwin, y su peso se dejó sentir en la fuerza explicativa de sus ideas): la pangénesis. Según la cual pequeñas copias de partes del cuerpo —gémulas— circulan por el cuerpo, y en determinado momento se concentran en los órganos reproductores.

Así, mientras, por un lado, los científicos de la época se preocupan de la evolución y de sus implicaciones —una auténtica revolución social en aquel momento—, por otro lado se avanzaba en los conocimientos citológicos con la ayuda de los recientes avances en el mundo de la microscopía. K. von Naegeli (1843) observa en células vegetales la presencia de «cromosomas» (*chroma*, del griego tinte), en forma de bastoncillos. Se empieza a conocer con detalle los números cromosómicos típicos para todos los miembros de una especie, y los procesos de división celular; la mitosis que origina dos células hijas idénticas a la célula madre originaria, y gracias a la cual, a partir de una sola célula producida en la fecundación, se originan millones de ellas constituyentes de un organismo adulto, todas ellas conteniendo la información genética originaria; y la meiosis, proceso que da lugar a las células gaméticas, con

la mitad de contenido en material hereditario —pero con toda la información—, y a través de la unión de dos de ellas, fecundación, se restituirá la cantidad típica —y duplicada— de la especie.

Roux y Weissman, a finales del siglo XIX, consideran improbable que esos elaborados procesos citológicos no tengan una buena razón de ser, y sospechan que los cromosomas constituyen el material hereditario.

Es también en esta época —1865— cuando Miescher descubre una sustancia en núcleos celulares, la «nucleína», una sustancia rica en fósforo, y cuatro años después informa que ha encontrado nucleína en riñones, hígado, testículos, «células sanguíneas rojas» y levadura.

Mientras todo esto sucedía en el mundo científico, un «oscuro» monje agustino realizaba en un convento de Moravia sus experiencias con guisantes, y publicados en 1865, sin ningún éxito de público, sus resultados sobre las leyes que regían la transmisión hereditaria, y la demostración de que dicha transmisión se realizaba por unidades discretas.

Y con esta clara separación entre los estudiosos de las leyes que rigen la transmisión hereditaria y aquellos que buscan su soporte físico-químico entramos ya en nuestro siglo, en el que se produce el nacimiento de esta ciencia que hoy, en plena «juventud», menos de un siglo después de su nacimiento, constituye la parte fundamental de lo que muchos han designado como una revolución más importante que la que aportó la Física o que la revolución industrial.

La Genética, nombre propuesto por Bateson en 1905, del griego «engendrar», «generar», se considera que nace como tal (ciencia de la herencia) con el redescubrimiento de las leyes de Mendel en 1900.

Así, las cuatro primeras décadas del siglo XX contemplan el desarrollo de la investigación genética dedicada fundamentalmente a conocer en profundidad cómo se produce la transmisión de los caracteres biológicos; supone también la culminación de toda una época y de una sociedad científica preparada para aceptar estos nuevos conocimientos.

Se establece la relación entre los factores mendelianos y su comportamiento y el de los cromosomas en los procesos de divisiones celulares.

Pero todavía en 1950, Müller escribe: «... el verdadero núcleo de la teoría genética permanece aún en un desconocimiento absoluto...».

Los años cuarenta y cincuenta representan una nueva era en la que se inicia la «prehistoria» de la revolución biotecnológica que tendrá lugar en los setenta. Es la época de la Biología Molecular, concepto acuñado por Astbury para designar esta parte de la Genética que trataba de encontrar, de conocer, el soporte molecular de la herencia. Numerosos científicos, con distinta formación, se interesaban por este nuevo campo.

Se sabía que en el núcleo celular había proteínas y nucleína; se conocía bastante más sobre la estructura proteica que sobre la nucleína; se sabía que las proteínas eran moléculas grandes que estaban constituidas por unas 20 unidades distintas, los aminoácidos. Sin embargo, la nucleína (hoy ácido desoxiribonucleico) estaba compuesta por fosfato, azúcar y sólo cuatro unidades diferentes, las bases nucleotídicas (ácido

desoxiribonucleico, ADN: adenina, A, timina, T, guanina, G, y citosina, C, más desoxiribosa; o ácido ribonucleico, ARN: adenina, A, uracilo, U, guanina, G, y citosina, C, más ribosa). No es de extrañar, pues, que los candidatos más idóneos como soporte de la herencia fuesen las proteínas y no los ácidos nucleicos.

Avanzados los años treinta se creía que el ADN era un tetranucleótido constituido por los cuatro nucleótidos distintos que se pueden obtener de las cuatro diferentes bases. Un nucleótido está formado por una base, un azúcar —ribosa o desoxiribosa— y fósforo.

A principios de los cuarenta, sabiendo que el peso molecular del ácido nucleico era superior, se pensó que éste constituía un tetrámero, pero repetido, un polímero, la repetición del tetranucleótido equimolar para las cuatro bases.

De ahí el escepticismo con el que se recibió la publicación en 1944, en el *Journal of Experimental Medicine*, de las investigaciones de Avery, McCleod y McCarty, en las que se demostraba por primera vez, y de forma directa, que el ADN era el responsable de una característica hereditaria: la formación de una cápsula en ciertas bacterias.

La bacteria *Diplococcus pneumoniae* tiene normalmente cápsula (polisacárida), que la recubre y provoca su virulencia, cápsula que puede ser de distintos tipos, pero también se pueden encontrar bacterias no capsuladas, que no son virulentas. Ambos tipos de bacterias ofrecen aspectos distintos al crecer en placas de cultivo y, lógicamente, transmiten esa característica (cápsula-no cápsula) a las siguientes generaciones. Griffith demostró en 1928 que bacterias de tipo virulento, muertas previamente por calor, influían en bacterias de tipo no virulento provocando su «transformación» en bacterias capsuladas por transferencia de alguna sustancia desconocida. Y fue en 1944 cuando el equipo de Avery demostró que el principio transformante era ADN:

«los datos obtenidos por análisis químico, enzimático, serológico..., indican que la fracción activa (transformante) no contiene proteínas, ni..., consistiendo principalmente, si no exclusivamente, de una forma viscosa de ADN altamente polimerizado».

Y así entramos en la Biología Molecular. El ADN era el contenedor de la información genética y consistía en un polímero no monótono de esas cuatro bases, pero ¿cuál era su estructura?

Astbury, pionero en el estudio cristalográfico de las proteínas, propone un modelo estructural. Otros tres equipos de investigadores continúan el trabajo: Pauling *et al.*, Wilkins *et al.*, y Watson y Crick.

Y fue precisamente ese magnífico equipo constituido por Watson y Crick los que convirtieron los datos en el famoso y real modelo tridimensional de la doble hélice, basándose en información química y en datos fotográficos de difracción de rayos X realizados por Rosalind Franklin, del equipo de Wilkins. Curiosamente se publicó en el mismo número de *Nature* de 1953 el modelo de Watson y Crick y los resultados de Wilkins. En 1962 se les concedió el premio Nobel.

El modelo de Watson y Crick consistía en dos cadenas helicoidales de polinucleótidos, dextrorsas, enrolladas alrededor del mismo eje y emparejadas por complementariedad de bases —enlaces de hidrógeno entre ellas—. Era como una escalera de caracol: las barandillas, los enlaces fosfato-azúcar y los escalones, las bases. Este modelo además insinuaba el posible mecanismo de replicación del material hereditario (semiconservativo, sirviendo cada hélice de molde para sintetizar una complementaria); en opinión de algunos, la reacción química más importante del mundo vivo.

Se había dado otro gran paso en la investigación genética; ahora quedaba por responder la segunda pregunta: ¿cómo funcionaba?, ¿cómo informaba ese ADN las características biológicas propias de cada especie? (el ADN constituye el material hereditario de la mayoría de los seres vivos, desde bacterias al hombre; sólo algunos virus poseen como material hereditario un polinucleótido algo distinto: ARN).

No tardó en plantearse lo que se llamó hipótesis de la secuencia: a la secuencia lineal de bases en el ADN le corresponde una secuencia lineal de aminoácidos en las proteínas.

La vida tiene una unidad básica: las células. Los seres vivos, o bien son células, o bien están compuestos por células. Lo esencial de ellas es su capacidad de replicarse, de producir más células. Y ello es químicamente complicado. Toda célula posee en su interior muchas distintas moléculas. Algunas, pequeños metabolitos (como azúcares, ácidos grasos, aminoácidos); otras, grandes macromoléculas, fundamentalmente ácidos nucleicos y proteínas. También sabemos que la mayoría de las reacciones bioquímicas celulares necesitan de catalizadores para su desarrollo, enzimas. Y que todas las enzimas son proteínas; es más, que la mayoría de las proteínas tienen actividad enzimática, aun cuando las hay con papel estructural.

Cada propiedad del organismo, desde las reacciones metabólicas, la forma de la nariz o color de los ojos, incluso su comportamiento, dependen en algún modo de la estructura proteica, y ésta, a su vez, refleja la información contenida en el ADN, en el material hereditario.

Pero, en definitiva, donde queremos llegar es a preguntarnos: ¿cómo el ADN, escrito en un lenguaje de 4 letras —las 4 bases—, pasa a un lenguaje de 20 —los 20 aminoácidos que componen la mayoría de las proteínas—; ¿cuál es la «clave», el código en esa «traducción»?

Fundamentalmente, tres son los grupos científicos que se encargaron de desentrañar ese código: los de Nirenberg, Ochoa y Khorana. Y en 1966, no sólo se conocían ya todas las fundamentales características del Código (cada 3 bases —codones—, codifican para un aminoácido, universalidad, etc.), y su clave de equivalencia entre codones y aminoácidos, sino también su funcionamiento: la existencia de un ARN (ácido ribonucleico) mensajero que servía de intermediario entre el ADN nuclear y la formación de proteínas en el citoplasma, la existencia de un tercer tipo de ácido nucleico, el ARN transferente o adaptador, que llevaría los aminoácidos para leer el ARN-m (ARN mensajero). Es de-

cir, se conocían los procesos de transcripción (formación del ARN-m) y traducción (formación de las proteínas a partir de la información del ARN-m).

Es también en la década de los sesenta, cuando, además de los equipos que trabajaban en el desciframiento del Código Genético, otros descubren que ciertos genes responsables de resistencias a antibióticos en las bacterias se localizan en muchos casos en ciertos fragmentos circulares de ADN que se llamaron plasmidios, o plásmidos (1963, Novick), y que poseen ciertas características (autonomía, replicación, transmisión de unas células bacterianas a otras...) que poco después se revelaron extraordinariamente útiles para su uso como vectores, como vehículos, en las técnicas de ingeniería genética molecular.

En este punto, muchos investigadores creyeron que se había agotado el tema. Pero pronto se demostró como falsa tal creencia. En la década siguiente, por un lado, se descubre que el genoma de muchos organismos es más complejo de lo que se pensó en principio: existencia de segmentos no codificadores, de genes móviles, saltadores, de genes solapantes, de secuencias repetidas, excepciones a la universalidad, etc.; y, por otro, que precisamente por esa universalidad de código y de material hereditario es posible romper las barreras de la evolución y pasar información genética de unos organismos a otros, y hacer que allí funcione. Nació lo que Nathans llamó, en 1979, en su discurso de aceptación del premio Nobel, «la Nueva Genética». Nació la nueva era de la tecnología genética molecular, de la revolución genética. Posiblemente, el período más acelerado en descubrimientos en la historia de las ciencias biológicas.

No obstante, antes de entrar de lleno en ella, permítaseme una cierta disquisición acerca del mundo viviente, de su unidad y diversidad, del producto de la evolución, que hoy nos permite, precisamente como resultado, romper las barreras que esa misma evolución creó.

Existe una diversidad casi infinita en los seres vivos; los hay extraordinariamente pequeños, sólo visibles en microscopía electrónica, y los hay gigantes ( *Sequoia gigantea* ); los hay que se alimentan de materias orgánicas diversas o de materias inorgánicas; los hay que viven en el agua, en la tierra, etc.; los hay tan simples que deben utilizar la maquinaria celular de otros para su reproducción, y los hay tan complejos como el hombre; etc. Toda esa diversidad es la respuesta evolutiva de la materia viva. Todo en un organismo, estructura, funciones, comportamiento, está adaptado a su específica forma de vida. Y todo ello se encuentra codificado en su material hereditario.

Pero toda esta diversidad resulta más extraordinariamente llamativa cuando sabemos de la unidad del material hereditario y de la universalidad de su código. De virus a *Homo sapiens*, nuestro «lenguaje» genético es el mismo (con excepciones). Y es precisamente esa unidad y universalidad lo que hoy nos permite, mediante las técnicas apropiadas, pasar información genética de unos organismos a otros, y con ello pasar las propiedades, las características biológicas de unas especies a otras. Una especie, producto de la evolución, es hoy, en definitiva, capaz de romper

el resultado de la evolución, los productos evolutivos o, si se quiere, «dirigir» la evolución —de momento en el laboratorio—.

Si difícil resulta siempre hablar de los acontecimientos que dieron nacimiento a una rama científica, mucho más en este caso en que la gran cantidad de descubrimientos, la velocidad a la que se han ido acumulando, produciendo, y su diversidad, lo hacen prácticamente imposible. Sin olvidar que, según los propios trabajadores del tema ésta no es una nueva ciencia, sino una serie de técnicas de trabajo. Aun así, podemos arriesgarnos a enumerar algunos de los más significativos descubrimientos, fundamentalmente en la década de los setenta, principio de los ochenta, o perfeccionamiento en los ochenta, y que han llevado a la aparición de esa Nueva Genética, que ha revolucionado el análisis genético, y que constituye en gran parte la Ingeniería Genética Molecular, cuyo más significativo paso —hasta el momento— lo constituye la obtención del ADN quimérico, recombinante.

Pero debemos advertir que no se debe identificar estas tecnologías de ADN recombinante (unión por manipulación genética de segmentos de ADN de diferentes orígenes) con la Nueva Genética, ni a ésta con la Ingeniería Genética (que debe incluir también las nuevas tecnologías reproductivas). Y también debe tenerse en cuenta, por el confusionismo que en muchos artículos de divulgación, de prensa, se ha establecido, que ADN recombinante tampoco es sinónimo de clonación (la réplica idéntica a partir de una entidad viva). Y clonación celular no es lo mismo que clonación de organismos.

En 1970 se aísla la primera enzima restrictasa (endonucleasa de restricción) extraída de una bacteria, *Haemophilus influenzae*, que tiene la propiedad de romper el ADN en secuencias definidas. Desde entonces se han conseguido multitud de enzimas de este tipo, endonucleasas de restricción, capaces de cortar secuencias determinadas, con cerca de 100 dianas diferentes, y extraídas de más de 200 especies distintas de bacterias.

El primer mapa genético de restricción se construyó un año más tarde del aislamiento de la primera restrictasa y correspondió al material hereditario de un virus, el SV40, que quedó cortado en 11 fragmentos en puntos específicos. De hecho, en 1978 se concedió el premio Nobel, por el descubrimiento y uso de las restrictasas, a Smith, Nathans y Arber.

Gracias al conocimiento previo de ciertas enzimas capaces de unir cadenas de ADN (ligasas, 1967) y ese descubrimiento de las endonucleasas de restricción, en 1972 se obtenía la primera molécula artificial de ADN recombinante, de ADN de dos diferentes procedencias, de ADN quimérico (en recuerdo de la quimera mitológica) (Berg y colaboradores).

Sólo un año después, en 1973, Cohen, Boyer y colaboradores construyen la primera molécula de ADN recombinante funcional (con el uso de la EcoRI): consiguen un plásmido de *Escherichia coli* (el SC101), que lleva información genética de dos distintos orígenes, información que le confiere resistencia a dos antibióticos: tetraciclina y kanamicina. Lo reintroducen en *E. coli* (bacteria inofensiva que los humanos portamos



en gran cantidad en nuestro intestino), y consiguen su funcionamiento: la síntesis de las proteínas correspondientes.

En 1974, por primera vez se introduce el gen de un organismo eucariote (de organización celular compleja, como nosotros), concretamente de *Xaenopus laevis*, un sapo, en *Escherichia coli*, y se consigue su funcionamiento.

Y comienza la preocupación de los propios científicos por las perspectivas, la potencialidad de estas técnicas. Se realiza una famosa reunión en Asilomar, California, en 1975, en la que se proponen restricciones y moratorias para este tipo de experimentos, y se pide el establecimiento de barreras tanto físicas como biológicas sobre los materiales utilizados.

Es también en esta época cuando comienza la preocupación pública, cuando salta a la opinión general, a la calle, en escándalo a veces gratuito y en imaginación frecuentemente desbordada, los peligros potenciales, reales o imaginarios, de estas técnicas. Los Institutos de la Salud de EE.UU. dictan las primeras reglas que restringen esta experimentación y que estuvieron en vigor hasta el 79. Y un informe gubernamental británico pide precauciones especiales. Cohen escribía en 1975:

«la manipulación de genes amplía las posibilidades de construir células bacterianas, que pueden cultivarse fácilmente y a un precio reducido, y que sintetizarán una amplia variedad de sustancias producidas biológicamente, como son los antibióticos y las hormonas, e incluso enzimas capaces de convertir directamente la luz solar en sustancias alimenticias o en energía utilizable. Quizá proporcione incluso una base experimental para introducir nueva información genética en las células vegetales o animales».

Y realmente hubo que esperar muy poco para que se cumplieran sus previsiones, al menos a nivel de laboratorio.

Simultáneamente, se trabajaba en el análisis, la secuenciación del ADN (la determinación de la secuencia nucleotídica, y como consecuencia de la secuencia aminoácida de la proteína que determina) y en el proceso recíproco: la síntesis de secuencias concretas de ADN, de genes.

Khorana y sus colaboradores, a principios de los setenta, realizan la primera síntesis de un gen (el correspondiente al ARN transferente de la fenilalanina). En el 75 se consiguió la secuencia completa del cromosoma de ARN del fago MS2 (un fago es un virus bacteriano). Gilbert, Maxam y Sanger, en el 76, idean un método de secuenciación rápida de ADN. Ambos procesos (secuenciación y síntesis) pueden ser realizados hoy por máquinas. Cuando en 1979 se necesitaban años para sintetizar un gen de 120 nucleótidos, sólo dos años después, en 1981, con una máquina se hacía en tres días, y se calculaba entonces que la información genética descifrada en los laboratorios de investigación crecía a un ritmo del 15 por 100 mensual. Hoy, las máquinas para sintetizar genes están comercializadas, máquinas con las necesarias sustancias químicas

cas y el correspondiente programa de ordenador, que en menos de una hora realizan la labor.

De hecho, en 1980 se concede el premio Nobel de Química a Berg, Gilbert y Sanger. Al primero por la obtención de las primeras moléculas de ADN recombinante, y a los segundos por sus métodos para secuenciar ADN.

Siguiendo con algunos de los puntos más importantes, en 1977 se funda la primera empresa del mundo de Ingeniería Genética Molecular: Genentech, en California, con la finalidad de aplicar estas nuevas tecnologías a la obtención de productos farmacéuticos. Cuatro años más tarde se cotizan en Bolsa sus acciones, estimando su valor, fuentes de Wall Street, en más de 200 millones de dólares.

También en 1977, se obtienen las primeras moléculas de ADN recombinante con material hereditario de mamífero. Itakura y sus colaboradores publican en *Science* la expresión en *E. coli* de la hormona somatostatina sintetizada químicamente. En 1979 se clona por primera vez un gen humano en bacterias. En definitiva, los tres últimos años de la década de los setenta, y por técnicas de ADN recombinante, se produce el *boom* por lo que respecta a sustancias de directo interés clínico, el avance es imparable. Se logra la síntesis de la hormona somatotropina (hormona del crecimiento), de la insulina, del interferón; se comienza a aplicar al estudio del cáncer, se sintetizan vacunas, etc. Todo ello, sin embargo, se encuentra aún a nivel experimental.

Haciendo un inciso, se avanzaba también en esta década en el campo de las tecnologías reproductivas, y en 1978 nace el primer bebé probeta.

Es ya en esta última década cuando se producen avances más espectaculares si cabe, y sobre todo más específicos, en el uso de las tecnologías. Con ello se trasciende el umbral del laboratorio para entrar ya en las aplicaciones industriales y el comercio.

En la década de los ochenta se fundan nuevas revistas científicas dedicadas exclusivamente a publicaciones sobre estos temas. Y las ya señeras en estos campos científicos publican cada vez con mayor frecuencia trabajos de este tipo, siendo ya raro el número en el que no puedan encontrarse. Pero no sólo en el campo científico; la literatura de divulgación se ve inundada con información más o menos real o imaginativa sobre los potenciales y logros de estas tecnologías. Incluso los periódicos y revistas de información general, con alta frecuencia, y no tan alto rigor, publican sobre los nuevos descubrimientos.

Comienza la década con dos importantes acontecimientos que marcaron el futuro. Uno de ellos, la concesión del premio Nobel de Química, que ya hemos citado, a Berg (junto con Gilbert y Sanger) por la obtención de las primeras moléculas de ADN quimérico (cuatro años antes, en el *New York Times*, se había pedido la no concesión de premios Nobel a investigadores en este campo). El otro, la Corte Suprema de EE.UU. resuelve que un microorganismo viviente era algo que podía patentarse. En 1972, A. Chakrabarty había presentado una solicitud de patente asignada a General Electric Co., sobre los derechos en una nueva cepa bacteriana, que había obtenido por métodos de ingeniería gené-

tica molecular, y que al parecer era capaz de degradar muchos de los componentes del petróleo crudo (aún hoy falta mucho para perfeccionar el sistema y conseguir lo deseado). Y, aun cuando Pasteur había patentado una levadura de cerveza, esta sentencia marca un hito en la historia científica y comercial, por cuanto es la primera patente de un organismo vivo fabricado artificialmente.

Es también en estos años cuando por primera vez se comienza a hablar de «clonación» (al menos en mamíferos), en el sentido de producción de múltiples individuos con igual dotación genética. En los años cincuenta ciertos genéticos del desarrollo habían tratado de demostrar la totipotencia o no de la información genética contenida en las células ya diferenciadas de un organismo superior adulto. Enuclearon óvulos de rana de cierta especie e introdujeron en ellos núcleos de células somáticas, consiguiendo el desarrollo de algunas ranas. Pero es en 1981 cuando Illmensee y Hoppe por primera vez consiguen resultados positivos con mamíferos. Las especulaciones en torno al famoso libro de A. Huxley (*Un mundo feliz*) y su proyección a la especie humana no se dejaron esperar.

En 1982, ya tenemos fábricas de biotecnología «moderna», molecular, y salen al mercado los primeros productos obtenidos por ingeniería genética molecular: una vacuna animal contra la fiebre aftosa, interferón para el tratamiento del herpes e insulina.

En este mismo año, una publicación en *Nature* provoca cierto revuelo en el mundo científico: por primera vez se consigue que un gen de mamífero sea funcional, que se exprese, en otro mamífero, desde la primera célula: se consiguen ratones de tamaño «gigante» (la fotografía de la portada de la publicación se ha mostrado en todas las Universidades, centros de investigación, conferencias, etc., sobre el tema), al introducir, en cigotos (la célula inicial de un organismo superior, la que lo originará, y que se ha formado por unión de dos gametos) de ratón, el gen con la información para la hormona del crecimiento de la rata, y la posibilidad de transmisión de esta información a su descendencia (Palmiter y cols., 1982). Los famosos ratones transgénicos.

También en estas fechas (81-83) se abre otro vasto campo de aplicación de la Ingeniería Genética Molecular: el del diagnóstico. Se consigue por vez primera para enfermedades como la anemia falciforme y la fenilcetonuria, dos graves enfermedades humanas provocadas por el mal funcionamiento de sendos genes.

Diez años después de la obtención de las primeras moléculas de ADN recombinante, la lista de genes humanos introducidos en bacterias llegaba casi al centenar (hormona del crecimiento, interferón, insulina, varios factores sanguíneos, diversos factores inmunológicos, sustancias cerebrales, etc.).

Simultáneamente se trabaja en el campo del cáncer —y recientemente se piensa en el SIDA—. Hace apenas una década, el cáncer era poco mejor conocido que cien años atrás. Hoy, gracias a estas nuevas tecnologías ya se han identificado y clonado genes relacionados con la enfermedad. Se han conseguido plantas y animales «transgénicos» (por ej.,

cerdos, en 1986). Y se avanza en el campo de la síntesis clorofílica y la fijación del nitrógeno por parte de los vegetales.

No debemos olvidarnos tampoco del avance en el campo de cultivos celulares, de obtención de hibridomas, y la obtención de anticuerpos monoclonales (AMC), que se produce en 1975 por Milstein y Kohler; en esta época comienzan a abrirse amplias perspectivas en el campo de la inmunología, incluida la lucha contra el cáncer (recordemos el premio Nobel de este año, 1988, por los trabajos en genética inmunológica a S. Tonegawa).

Y, obviamente, los avances en investigación básica sobre el mismo material hereditario son incontables. Conocemos sobre la complejidad génica del material hereditario, algo que no se sospechaba en los años cincuenta y sesenta, cuando se descubría su estructura y su código. Y estamos más cerca de la luz en esa enorme caja de pandora que es la maravilla de la vida: el paso de una «sencilla» célula inicial a un organismo completo, con millones de células, y con los atributos propios de su especie, con una determinada estructura tridimensional, una fisiología, un comportamiento.

En palabras de S. Krimsky (1982):

«Dentro de un período de tiempo relativamente corto, las ciencias biológicas habrán pasado de la edad de su inocencia a su edad de ansiedad.»

Y así está siendo. Estamos en la «era del gen», como ha podido titularse una conocida obra.

En definitiva, hemos entrado en un nuevo «ultramarckismo»: la herencia de los caracteres adquiridos. Y más allá, «adquiridos» a capricho, por manipulación de una especie: el *Homo sapiens*. Para los científicos de hoy, evolucionistas convencidos, con el paradigma de la evolución indiscutible, tiene resonancias irónicas.

La situación en que nos encontramos actualmente, con independencia de que luego me voy a extender en alguno de los apartados fundamentales, presenta, entre otras, las siguientes más importantes características:

1. La aceleración de los procesos de descubrimientos científicos, consecuencia, en parte, de la aceleración inducida de unas ramas sobre otras y la acción sinérgica con la aplicación con fines económicos.

2. Por primera vez en la historia de la humanidad los descubrimientos científicos y sus aplicaciones tecnológicas están en condiciones de alcanzar a todos los seres humanos, lo que provoca que el interés científico reducido a pequeños sectores de la sociedad se extienda hoy a más amplios sectores, a veces de forma, desgraciadamente, superficial.

3. También por primera vez, la ciencia pone en cuestión algunas de las instituciones tradicionales con las que se ha organizado la sociedad (familia, paternidad, herencia).

Y como consecuencia de lo anterior, la discusión ética intenta abordar la readaptación de los valores sociales a ese cambio, y ello es un reto cada vez más perentorio en la medida en que el ritmo de descubrimientos es más acelerado.

Teniendo en cuenta, por tanto, los cambios científicos, las tremendas implicaciones de carácter económico, el interés social que despiertan, y el beneficio e incluso el peligro potencial que pueden conllevar para el propio hombre, y la implicación de cada vez más amplios sectores de la sociedad en sus efectos, no es raro que estemos asistiendo a un interés creciente de la sociedad por la revolución científica y sus efectos sobre la vida de la colectividad. Ello no siempre es positivo, pero al menos coloca la ciencia en el punto de mira en que siempre debió estar. Las ciencias biológicas son ahora también ciencias sociales.

## ESTUDIOS CONCRETOS Y PERSPECTIVAS

Hemos efectuado una presentación general del desarrollo histórico que nos ha conducido al punto culminante en las Biotecnologías de hoy: la obtención del ADN recombinante. Consciente de haber utilizado esa línea conductora y obviando en gran medida otros desarrollos científicos colaterales, pero consciente también de la importancia, de la presencia que algunas de esas otras vías tienen hoy y de las perspectivas que ofrecen en el campo de la manipulación genética, en esta segunda parte de la conferencia se tratará de aportar datos que cubran el amplio espectro de los niveles y campos en que hoy el hombre puede —y lo hace— «manipular» las moléculas de la vida; «crear», en cierta medida, vida.

Así, dependiendo de cuál sea la «unidad» de manipulación podemos considerar tres niveles: la utilización y/o modificación de la información genética completa poseída por un organismo, bien a nivel celular-tisular o bien orgánico, y la realizada en el nivel de información parcial, de fragmentos de ADN, de genes. En los tres niveles (orgánico, tisular-celular, fragmentos), poseemos datos empíricos de lo conseguido en las más diversas especies, desde las bacterias al hombre. Y sus campos de aplicación van desde la medicina a la agricultura y ganadería, desde la industria farmacéutica a la energética, desde la investigación básica a la utilización en el campo medio-ambiental.

Pero debemos tener en cuenta que las diferentes biotecnologías se encuentran, a su vez, en distintos estadios en su investigación y desarrollo, y por tanto en su posibilidad de aplicación; que el desarrollo de ciertas tecnologías es crítico para la introducción de otras, están interrelacionadas; que su utilización difiere en las diferentes especies animales y vegetales.

Es imposible una exhaustiva exposición, pero sí quisiera hacer referencia a los casos más significativos, que nos permitan una visión global y lo más aproximada posible del estado de la cuestión y de sus perspectivas más inmediatas.

Posiblemente el interés fundamental, desde el punto de vista ético-social, se centra en dos de los tres últimos apartados, y en ellos nos detendremos con más amplitud, realizando sólo una breve presentación en los otros casos.

## SELECCION ARTIFICIAL Y BANCOS DE GERMOPLASMA

Casi desde sus comienzos, la humanidad ha «manipulado» y utilizado a otros seres vivos para su provecho. En esos comienzos, cuando el hombre pasó de cazador a agricultor, la «manipulación» consistió en una selección dentro de lo que la naturaleza ofrecía. Los procesos de selección artificial en agricultura y ganadería siguen siendo utilizados de manera general. Básicamente consisten en elegir como reproductores, como semillas, de la siguiente generación ganadera o de la siguiente cosecha, a aquellos organismos (plantas o animales) que manifiestan los caracteres que nos interesan en su grado máximo, en la esperanza de que la siguiente generación, como promedio al menos, será mejor que la anterior. Hoy conocemos la base científica de lo que durante milenios se practicó intuitivamente. Las características de los organismos vienen determinadas por sus genotipos, por su información genética, en interacción con el ambiente en que se desarrollan. Es de esperar, en principio, que aquellos que manifiestan mejores características (fenotipo) posean «mejores» genes, y por lo tanto si los usamos como parentales, los transmitirán a sus hijos, quienes a su vez manifestarán mejores caracteres, etc.

Con estas técnicas se ha conseguido multiplicar la productividad de muchas especies cultivadas de manera espectacular (cereales, maíz...) y en muchos animales domésticos (producción de leche en vacuno, producción de huevos en gallinas...).

Sin embargo, las técnicas tienen sus aspectos positivos y también pueden tener sus consecuencias negativas.

El éxito de la selección artificial depende de la variabilidad genética disponible. Tras generaciones y generaciones de su práctica, se va perdiendo esa variabilidad, se va uniformizando genéticamente, lo que significa que hay un techo a la selección. Aún más, la aparición de un nuevo agente ambiental patógeno puede afectar negativamente a toda la cosecha incluso de un país entero. Ejemplos de ello lo tenemos en la enorme pérdida del maíz en EE.UU. en 1970, por el ataque de un patógeno para el que todas las plantas respondían de manera uniforme al ser igualmente uniformes sus características genéticas de no resistencia. Se perdió al menos un 15 por 100 de la cosecha. En 1846 se perdió toda la patata en Irlanda, provocando un período de hambruna y causando la muerte de más de dos millones de personas. En 1860, la filoxera arrasó prácticamente todos los viñedos de Europa. En 1958, una roya del tallo del trigo destruyó en EE.UU. el 75 por 100 del destinado a pastas y el 25 por 100 del destinado a pan.

Por otra parte, la extensión de tierras cultivables a zonas anteriormente agrestes, provoca a su vez la pérdida de especies y variedades de esos lugares. O sea, más pérdida de diversidad genética. Según J. Mayer, cuando la población humana era de cinco millones (hace diez mil años), existían 5.000 especies de plantas comestibles. Hoy, con más de 4.000 millones, hay menos de 150 especies comestibles en el mercado. Las presiones de la población humana en expansión, que se calcula alcanzará 6.000 millones en el año 2000, provocará, si continúa el actual ritmo de tala de bosques, erosión del suelo, contaminación, desertización..., la pérdida de un tercio de las tierras de cultivo, y el área de bosques productivos no talados se verá reducida a la mitad.

Esta situación ha propiciado una cierta conciencia del problema (Junta Internacional de Recursos Genéticos Botánicos, con un Secretariado en la FAO), y ya disponemos de bancos de germoplasma en los que mantener, con la tecnología apropiada, la diversidad genética existente, y a los que recurrir en el momento necesario.

La manipulación en estos casos ha implicado técnicas de almacenamiento de los genomas de los organismos. Ello conlleva controversias internacionales entre países en vías de desarrollo, donde generalmente se han conservado mayor número de variedades y especies, y países desarrollados donde se asientan los citados bancos de germoplasma. Sin olvidar las guerras comerciales de las casas productoras de semillas frente al agricultor individualizado.

El método más generalizado es el de almacenamiento de semillas a  $-15/-20^{\circ}$  C. La criogénesis (conservación a temperaturas de congelación en nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}$  C) es otro de los métodos. El problema, en ambos casos, es la proporción de regeneración posterior.

Ciertas plantas, no obstante, no resultan adecuadas para preservarlas por medio de semillas, y así, se conservan en forma de planta viva bajo condiciones adecuadas, con las instalaciones apropiadas, en muchos casos costosas.

Una alternativa, que analizaremos después, la ofrece el cultivo de tejidos, el crecimiento de pequeños fragmentos de plantas, que pueden regenerar plantas completas en soluciones nutritivas apropiadas (un especial sistema *bonsai*).

No obstante, todos estos sistemas de manipulación genómica para preservar la «variabilidad genética botánica» tienen un muy grave inconveniente: las variedades almacenadas no evolucionan y las silvestres sí, así como los posibles agentes patógenos. Debido a esto, ciertos investigadores han propuesto «congelar el panorama genético» —no en el sentido literal de la palabra—, establecer reservas nacionales e internacionales, tanto para variedades cultivadas como silvestres, y muy especialmente ancestrales.

## MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL

Pero estrictamente hablando, el uso «tecnológico» de otros organismos —biotecnología— por parte del hombre se comienza con microorganismos para que realicen determinadas funciones, y concretamente en sus inicios, fermentaciones para obtener cerveza.

Desde entonces (seis mil años a. de C.) se han utilizado, y se utilizan, microorganismos que son capaces, debido a su información genética, de realizar determinadas reacciones o de sintetizar determinados productos útiles para el hombre, diminutas fábricas a nuestro servicio. Debido a la gran versatilidad, a la gran diversidad de modos de vida de estos organismos, su utilidad se aplica a las más diversas áreas: farmacéutica, alimentaria, energética, química, medio-ambiental.

Hoy las especies útiles (unos centenares) comprenden fundamentalmente bacterias, levaduras, hongos.

También en este caso el hombre utiliza la información genética de otros seres, en principio tal y como la proporciona la naturaleza.

Entre las levaduras, *Saccharomyces cerevisiae* es la más antigua al servicio del hombre. Se utiliza en la fabricación de cerveza, vino, saké y otras bebidas alcohólicas, así como en la industria panadera. *Kluveromyces fragilis* fermenta la lactosa y puede producir alcohol a partir de suero de leche. *Trichosporon cutaneum* oxida muchos compuestos orgánicos, algunos tóxicos como los fenoles, y se utiliza en sistemas de depuración. *Phaffia rhodozyma* es capaz de sintetizar un carotenoide (la astaxantina) utilizado para colorear la carne de salmones y truchas criados en cautiverio.

Entre las bacterias encontramos múltiples especies con funciones diversas: *Gluconobacter* transforma el etanol en ácido acético; *Clostridium* transforma azúcares en alcoholes y acetona. Tenemos también las bacterias lácticas. Las *Streptomyces*, que producen antibióticos. Y las capaces de realizar la llamada «fermentación metánica» (en realidad respiración anaerobia, un tipo), que son bacterias productoras de energía, de metano, a partir de sustratos orgánicos. La producción de biogas utilizando estas bacterias es de alto interés en medios rurales de países en desarrollo; de hecho, en la India y China existen importantes programas específicos a este respecto.

Ciertos hongos constituyen otros interesantes microorganismos capaces de producir enzimas que se usan industrialmente (proteasas, pectinasas, amilasas), antibióticos, ácidos orgánicos, etc. Se usan, por ejemplo, en la industria quesera.

Otros microorganismos están siendo utilizados como «mineros», en la extracción del cobre, o como buscadores de pozos de petróleo.

Y, por último, otros se utilizan en la degradación de productos de desecho originados por las actividades humanas. Por ejemplo, los que contienen glúcidos pueden transformarse por fermentaciones microbianas diversas. En la depuración de aguas residuales, y en general en desechos orgánicos, diversos microorganismos pueden jugar un importan-



te papel. En la descomposición de hidrocarburos, las *Pseudomonas* poseen enzimas oxidorreductoras y de hidroxilación. En algunos casos no se produce estrictamente una degradación de la molécula tóxica, pero sí se puede producir su transformación química —fosforilación, metilación, etc.— y, como consecuencia, su destoxificación.

Por supuesto, también se está experimentando la posibilidad de utilizar microorganismos como fuente proteínica, de alimentación.

Muchos de estos procesos realizados por microorganismos, hoy se pueden realizar por métodos estrictamente químicos. La opción por una biosíntesis o por una síntesis química para obtener una sustancia de interés industrial se basa en consideraciones fundamentalmente económicas: costo de la materia prima; en el caso de las fermentaciones suele ser almidón o celulosa, o residuos agroalimentarios, como melaza, suero lácteo, etc.; en la síntesis química suele ser petróleo o sus derivados. Otro apartado a considerar es la eficacia del proceso: duración, proporción de sustrato convertido en sustancia final... Y, por último, la eliminación de residuos y su posible utilización.

## TECNOLOGIA REPRODUCTIVA

La tecnología reproductiva, o más ampliamente la Ingeniería del Desarrollo, representa otro de los campos biotecnológicos hoy en alza por los llamativos logros conseguidos y su posible aplicación a la especie humana, y las implicaciones ético-sociales de los mismos. Este apartado, y el último, posiblemente sean los de mayor interés desde el punto de vista ético-social, y los más polémicos.

También, en este caso, el manipulador genético utiliza la información hereditaria que le ofrecen los organismos, no «construye» una nueva, pero sí la puede «combinar» —gametos diferentes, fusión embrionica, etc.—, y sobre todo modificar «generacionalmente» —cambiar la madre biológica...—.

Son tecnologías que se han desarrollado fundamentalmente en el campo de la investigación básica, tratando de averiguar cómo se llega de una simple célula a un organismo complejo, y en el de la aplicación a animales domésticos, que suponen generalmente especies de desarrollo complejo, aves y mamíferos, y por ello más próximos a nuestra propia especie.

Podemos incluir aquí: almacenamiento de óvulos y esperma, inseminación artificial, transferencia de óvulos, fecundación *in vitro*, transferencia de embriones, control del sexo en la descendencia; pero también hay otros aspectos como la clonación y la monogénesis (partenogénesis o androgénesis).

Con estas prácticas lo que se ha pretendido ha sido, en el caso de animales domésticos, la propagación de germoplasma superior genéticamente —y económicamente—, con información hereditaria para características superiores o deseables. En la especie humana se ha plan-

teado, inicialmente, como solución a parejas con problemas de fertilidad.

Pero, en cualquier caso, la inmediata ventaja en la investigación básica, es que estas técnicas están extendiendo progresivamente la porción del proceso de desarrollo que está bajo control del investigador y, por tanto, sujeta a manipulación experimental.

Los trabajos pioneros en el campo de la ingeniería del desarrollo se deben a Briggs y King, que en 1952 ponen a punto una delicada técnica para la transferencia de un núcleo (en organismos superiores, eucariontes, la información genética reside en el núcleo celular, fundamentalmente) de una célula a otra. En concreto, transfirieron núcleos de embriones de rana en diferentes estadios del desarrollo a huevos no fecundados previamente enucleados. Y consiguieron el desarrollo completo de algunas ranas. El trabajo había sido planteado para investigar los procesos de diferenciación celular durante la embriogénesis, pero una de sus más importantes implicaciones fue la demostración de la posibilidad de trasplantar un núcleo extraño, con toda su información hereditaria, a una célula receptora, y obtener un crecimiento orgánico normal. En otras palabras, era posible experimentalmente el trasplante nuclear.

La inseminación artificial es una práctica generalizada en el campo granjero desde hace treinta años. En EE.UU., por ejemplo, el 100 por 100 de los pavos domésticos se producen por inseminación artificial; en vacuno sólo se da un 5 por 100. Pero incluso, hoy, peces y hasta abejas pueden inseminarse artificialmente. En nuestro país, un ejemplo lo ofrecen los caballos de raza. Virtualmente cualquier especie doméstica, hoy, es posible someterla a inseminación artificial.

La inseminación artificial permite la expansión, incluso a puntos alejados geográficamente, de germoplasma con información para producir más cantidad de leche, poner mayor número de huevos, correr más deprisa, etc. El transporte y almacenamiento de semen y óvulos resulta mucho más económico, pero además tiene la ventaja de que puede «probarse» previamente para controlar la no existencia de enfermedades venéreas u otras.

El almacenamiento y congelación de espermatozoides a  $-196^{\circ}$  centígrados por períodos más o menos largos de tiempo, y su utilización y viabilidad posterior, es ya fácil. Pero incluso en el caso de los óvulos, lo que ha resultado obviamente más difícil, ya que la obtención de tales óvulos implica en muchos casos cirugía, se consigue ya con relativa facilidad hasta en nuestra propia especie. El estímulo hormonal para una superovulación en hembras permite la obtención de un amplio número de óvulos de una misma hembra.

Y, lógicamente, la obtención de gametos femeninos y masculinos lleva a la fecundación *in vitro*: unión de ambos gametos fuera del tracto reproductivo, en el laboratorio. Lo que a su vez permite, por un lado, la unión de gametos de diversos orígenes, y por otro, la reimplantación del cigoto o embrión en distintas «madres gestadoras», que no necesariamente tienen que ser las «madres genéticas».

En animales domésticos no es una técnica muy desarrollada, aunque se ha conseguido a partir de oocitos de oveja, cultivados y madurados *in vitro*, su fecundación *in vitro*, su reimplantación en ovejas en el adecuado estado fisiológico, y el desarrollo en corderos normales. También se ha utilizado en el conejo, y en cerdo y vacuno, aunque en estos dos últimos casos se encuentra aún en fase más experimental.

Se viene aplicando como un medio para valorar la fertilidad de óvulos y esperma, para superar la infertilidad de hembras por transferencia de embriones, para facilitar la unión de específicos óvulos y esperma en la producción de animales de determinadas características.

En nuestra especie, la fecundación *in vitro* es ya una práctica muy extendida, habiéndose producido en 1978 el primer nacimiento de un embrión obtenido de esta forma (R. G. Edwards y P. C. Steptoe). Y constituyendo en la actualidad un procedimiento normalizado con alto porcentaje de éxito. Es una técnica a la que hoy acuden múltiples parejas con problemas de esterilidad. Recordemos que de los casos de esterilidad femenina, se estima que al menos un 20 por 100 es atribuible a problemas de oviductos bloqueados o anormales, con normalidad de óvulos. En estos casos se puede obtener el óvulo de una mujer, proceder a su fecundación *in vitro* y a su reimplantación en esa misma mujer.

Todo ello plantea, como es obvio, una serie de cuestiones con implicaciones de carácter ético-legal. Se encuentra en estos momentos en nuestro Parlamento una proposición (que se discute en Pleno esta semana) en relación con la llamada «reproducción asistida». Proposición que está levantando una amplia polémica, ya que incluso dentro de partidos tradicionalmente conservadores y católicos no existe unanimidad en la aceptación o rechazo de estas tecnologías reproductivas. En la calle la discusión es cotidiana y en los medios de difusión no es extraño encontrar noticias al respecto.

La primera de aquellas cuestiones es la donación gamética, tanto de óvulos como de esperma, una posibilidad que se ofrece para ciertos casos de esterilidad en los que uno de los miembros de la pareja produzca gametos normalmente. O para tener hijos sin necesidad de pareja. Pero con ello, lógicamente, se puede también llegar a la propuesta realizada por el premio Nobel H. J. Müller (1890-1967), de selección germinal, una especie de eugenesia para «mejorar» la dotación genética de la humanidad, seleccionando semen de hombres «notables» con el que fecundar a mujeres que lo deseasen, o a mujeres de características también «notables». Dentro, sin embargo, de los múltiples interrogantes que esta cuestión plantea o de los riesgos de cohesión social que puede conllevar, está el no pequeño problema de definir qué o cuáles son las características «notables», quién o quiénes las determinan, y cuál es la legitimidad que les autoriza a ello.

Tras la fecundación *in vitro*, la implantación del embrión se puede realizar en la madre genética o no. La mujer que transporte el embrión no necesariamente tiene que ser la madre genética del mismo. Ciertos casos de alquiler de úteros ya son del dominio público, y la polémica legal y social que han levantado también. Se trataría de una especie de

adopción prenatal. Estamos ante la dialéctica entre madre genética, madre gestante, padre genético, padres adoptantes. Incluso se podría dar el caso de que padres genéticos, madres gestantes y padres adoptantes, fuesen diferentes personas.

Tampoco debemos olvidar otro aspecto, que hace apenas una década era considerado de resolución a largo plazo, y que en 1984 se confirmó como un hecho real: la congelación no ya de esperma u óvulos, sino de embriones humanos, y su perfecta viabilidad y normalidad posterior. También esto plantea un buen número de interrogantes, entre ellos los de carácter legal. Cuestiones como la definición jurídica de persona, heredero, propietario, etc., estarían implicadas en ello.

Tanto en animales domésticos como en el propio hombre, el almacenamiento de embriones por congelación presenta todavía dificultades técnicas, aunque es un tema de interés, ya que ofrece ventajas respecto al transporte de germoplasma o respecto a la necesidad de sincronizar el estro (período en que la hembra, en ciertas especies, es «receptiva» al apareamiento con el macho). Se cree que embriones almacenados en las condiciones apropiadas podrían sobrevivir cientos de años e incluso es posible que milenios.

En relación con la manipulación de embriones debemos hacer referencia también a la práctica de la transferencia de embriones (con o sin cirugía), no la reimplantación en una madre tras la fecundación *in vitro*, sino la obtención de embriones de una hembra y su transferencia al oviducto o útero de otra para su posterior desarrollo.

En vacuno, la transferencia de embriones es hoy una práctica habitual en el tráfico comercial. Sin embargo, las técnicas no están suficientemente desarrolladas en oveja y cabra, y resultan todavía muy problemáticas en cerdo.

Con estas técnicas se puede obtener descendencia genética de hembras incapaces de gestar. También es una forma de conseguir más descendencia a partir de una sola hembra, utilizando otras como gestantes, sin tener que esperar el tiempo de gestación para un nuevo descendiente. Y, por supuesto, también se puede detectar con más rapidez la posible existencia de caracteres deletéreos, «recesivos» —ocultos—, indeseables en la donadora.

Otro aspecto de un obvio interés comercial en animales domésticos, es la posibilidad de controlar el sexo de la descendencia. Se pueden sexar los embriones, antes de una transferencia, por métodos cariotípicos. En el hombre, como en el resto de los mamíferos, y otras muchas especies, hay una diferencia entre machos y hembras en su dotación cromosómica: hay una pareja de cromosomas, los cromosomas sexuales, que son idénticos —citológicamente— entre sí en hembras, y reciben el nombre de XX, pero son parcialmente diferentes en machos, XY. Ello permite la identificación embrionica. El problema surge, por un lado, al disponer de sólo un pequeño número de células, para su crecimiento y el análisis cariotípico correspondiente, y, por otro, se puede dañar al embrión.

La aplicación de técnicas moleculares se espera proporcione mayor éxito. Intentando identificar el «producto», la proteína codificada por ciertos genes de los que se conoce su situación —su locus— en los segmentos diferenciales de cromosomas X e Y, por ejemplo, con un test colorimétrico para la actividad de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, se identifica el sexo correctamente en un 64 por 100 de los embriones de ratón, con sólo una ligera baja en la viabilidad de los probados. También se han publicado resultados en relación con antígenos específicos del macho que pueden ser detectados en embriones de sólo 8 células mediante inmunofluorescencia con antisueros.

Lógicamente, el método ideal cuando se utiliza la inseminación artificial o la fecundación *in vitro*, sería la separación en el espermatozoides de aquellos gametos que producirían descendencia masculina (los portadores del cromosoma Y, el 50 por 100 del total, en principio, de los gametos) de aquellos que producirían descendencia femenina (los portadores del cromosoma X).

La aplicación a la especie humana todavía presenta graves dificultades, pero es obvio que en un plazo breve se facilitará. Lógicamente, esto arrastra consigo una problemática abortista en caso de sexo no deseado en la descendencia.

Quedaría también incluida en este campo la posibilidad de fusión celular. La obtención de individuos a partir de la fusión de embriones o células (en el siguiente apartado lo analizaremos desde otra perspectiva), consiguiendo así organismos «quiméricos», mosaicos genéticos, con parte de sus células con una información genética, y otras con una información diferente, y que poseerían, estrictamente hablando, dos madres y dos padres —tetraparentales—, o incluso hexaparentales. Se han conseguido producir ratones con fusión celular en los primeros estadios del desarrollo de dos diferentes embriones (Mintz, 1967). La técnica consiste en la agregación de blastómeros procedentes de dos o más embriones, o en la inyección de células totipotentes dentro de la cavidad blastocística.

Estas técnicas y los organismos con ellas obtenidos son poderosas herramientas en el estudio del desarrollo de mamíferos, pero su aplicabilidad en la producción de animales de interés económico no es tan obvia.

Un caso muy llamativo se produjo hace cuatro años (Fehilly *et al.*, 1984), con la publicación de los resultados en la obtención de una quimera interespecífica: por fusión de embriones de cabra y oveja se consiguieron adultos que expresaban caracteres fenotípicos de ambas especies, incluyendo zonas de la piel con lana y zonas de la piel con pelo. Se había conseguido la «oveja-cabra» (más fácil en inglés, la *geep*). Aunque esto parece darse, ocasionalmente, de forma natural, por fecundación interespecífica.

La posibilidad de producir individuos genéticamente idénticos ha sido algo que ha fascinado desde siempre, tanto a científicos como al público en general. Todos conocemos las obras desbordadas de imagi-

nación de algunos escritores. Hoy, tal posibilidad ya es real, y se han obtenido los primeros resultados.

El término «clonación», que hoy se utiliza en referencia a la producción de un amplio número de individuos con idéntica información genética, no tuvo inicialmente ese significado y fue propuesto en 1903 para designar las plantas que se propagan de manera asexual (del griego *klon*=brote). Se extendió más tarde el término a todos los modos de reproducción asexual. Y hoy, en términos estrictamente científicos, se refiere a un organismo que proviene de una célula por divisiones mitóticas. Pero su uso actual se ha fijado en la «identidad genotípica» de organismos completos o incluso de células o segmentos de ADN.

La forma en que se da en la naturaleza es a través de los gemelos idénticos. Pero éste es un proceso extraordinariamente raro, poco probable, en muchas especies. También, desde el punto de vista práctico, se ha considerado que los individuos de líneas de mamíferos (u otros organismos), muy endogámicas, con alta tasa de consanguinidad, durante muchas generaciones, son genéticamente iguales.

Pero en el laboratorio se han desarrollado métodos para producir clones. Por división de embriones —recordemos que también se aplican técnicas de fusión con otros fines y resultados— y por trasplante nuclear.

Por separación de blastómeros o por división embrionaria en estadios de morula o blastocisto temprano, y la reimplantación en hembras receptoras, se han conseguido gemelos, tripletes y cuádrupletes, genéticamente idénticos, de una amplia variedad de embriones de diferentes especies de mamíferos (ratones, oveja, vacuno, cerdo, caballo).

Otra metodología para la obtención de individuos genéticamente idénticos es la inserción del núcleo de una célula en otra, bien antes o bien después de que el complemento genético de la célula receptora sea destruido. Como ya hemos comentado, de las primeras experiencias que se realizaron en este campo fue la de trasplantar núcleos de células somáticas de embrión, en anfibios, a un cigoto, desarrollándose individuos —ranas— normales.

La técnica ideal para conseguir muchas copias genéticas de un determinado mamífero adulto, sería la de insertar núcleos de células somáticas (todas ellas con idéntica información hereditaria, ya que provienen de la división mitótica de una sola célula original, el cigoto) de ese individuo, en óvulos enucleados. Ello sería hipotéticamente posible si se resolviesen los graves problemas técnicos y biológicos que lleva consigo, sobre todo en relación con la historia celular ya sufrida por los núcleos celulares del donante, que puede afectar de manera irreversible al proceso de regulación de la acción génica en el sistema heterólogo (núcleo de un origen, citoplasma de otro) que se formaría. Sabemos que la mayor parte de las células somáticas de un adulto están irreversiblemente diferenciadas, han perdido su capacidad totipotente. Sin olvidar que no toda la información genética de un individuo reside en su núcleo.

Pero, potencialmente, puesto que todos los núcleos de células somá-

ticas de un individuo pluricelular presentan, en principio, idéntica información genética, podrían ser extraídos e implantados en otras células enucleadas, como óptimo en óvulos maduros. Llegaríamos así a un gemelado *ad infinitum* (?). De hecho, y a pesar de todas las dificultades, en 1981, Illmensee y Hoppe conseguían por primera vez la clonación de un mamífero: obtuvieron tres ratones por clonado. Causó un gran impacto la publicación de estos resultados; las extrapolaciones a la especie humana resultaban inevitables. Pero los «extrapolantes» suelen olvidarse en muchos casos de algo: el genotipo, la información hereditaria, se «realiza» en unas características biológicas concretas en un medio ambiente determinado. En otras palabras, el fenotipo es la manifestación de genotipo y ambiente. Ambientes —en el sentido más amplio de la palabra— diferentes pueden conducir, partiendo de un concreto genotipo, a fenotipos diferentes, a individuos diferentes, sobre todo en caracteres con determinación genética compleja y/o caracteres muy sensibles al ambiente, muy penetrables por el ambiente, flexibles, como es el caso de los caracteres de tipo cuantitativo (altura, producción lechera, etc.) y, muy especialmente, el comportamiento.

Las experiencias han continuado, y en 1986 se han publicado resultados en que los núcleos de embriones de oveja de 8 y 16 células fusionados con enucleadas mitades de óvulos sin fecundar se mostraban totipotentes (Willadsen, 1986). Y aunque todavía conocemos poco, estos resultados sugieren que la clonación de especies domésticas puede llegar a ser realidad.

Por último, dentro de este apartado de biotecnología reproductiva, no debemos olvidar la alternativa reproductiva que ciertos seres vivos utilizan naturalmente: la partenogénesis o monogénesis en general, es decir, la reproducción, el desarrollo de descendencia, a partir de un único sexo (partenogénesis si es el femenino, androgénesis si es el masculino). Lo que implicaría, puesto que los gametos son haploides (contienen sólo la mitad de cantidad del material hereditario que poseen las células somáticas), la necesidad de su duplicación, de su diploidización, y como consecuencia, la obtención de individuos homocigotos totales, con toda su información genética exactamente repetida en una concreta alternativa. Pero esto, que se consideraba imposible en mamíferos, también se ha conseguido en ratones (Hoppe e Illmensee, 1977), aunque a pesar de ello las dificultades resultan hoy por hoy insalvables en la mayoría de las especies animales.

Podríamos acabar este apartado haciendo referencia a algo que por el momento se encuentra más allá de las tecnologías hoy disponibles: la posibilidad de que el control sobre el desarrollo sea completo, es decir, que tras la fecundación *in vitro* se llegue a realizar el desarrollo total *in vitro* y la obtención en el laboratorio de individuos. Aun cuando esto es ciencia-ficción por hoy, no hay que olvidar que no hace mucho los expertos opinaban del mismo modo respecto de muchos logros que ahora son ya prácticas habituales.

## CULTIVO DE TEJIDOS

Un campo vasto y creciente en el área biotecnológica, que resulta cada vez de mayor interés por su importancia estratégica, lo que provoca que sea seguido de cerca e impulsado por los poderes públicos de países avanzados, el cultivo de tejidos y células, se desarrolla hoy en dos amplias ramas, la primera referida al mundo vegetal, cuyo interés fundamental es el de conseguir plantas con un mejor rendimiento, mayor resistencia a patógenos en general y más fácil multiplicación, y la segunda referida al mundo biomédico, cuyo interés primordial está relacionado con la obtención de anticuerpos monoclonales y su posible aplicación a métodos de diagnóstico y de lucha anticancerosa.

El cultivo de tejidos vegetales consiste básicamente en la regeneración o desarrollo de una planta a partir de órganos —raíces u hojas, por ejemplo—, tejidos de un solo tipo celular, o incluso células aisladas, mantenidas en un medio nutritivo adecuado.

En la década de los treinta ya se practicaba el cultivo de tejidos vegetales, pero no es hasta fines de la década de los cincuenta, tras el descubrimiento de las hormonas vegetales, cuando se pueden regenerar totalmente y con relativa facilidad plantas completas a partir de cultivos tisulares. En 1949 se observó que al cultivar el meristema apical de una planta infectada por un virus se podía regenerar una nueva planta no infectada. Otro caso lo constituye cierta variedad de patata, la *belle-de-Fontenay*, que ya no se cultivaba debido a la infección por un virus, y que se consiguió reproducir libre del mismo a partir del meristema sano de una planta enferma, multiplicado *in vitro*. El meristema regenera originando una pequeña planta de 5-6 hojas, y al cabo de algunas semanas el tallo se puede dividir en 5-6 esquejes diminutos, que en las condiciones adecuadas regeneran plantas completas.

La micropropagación ofrece considerables ventajas, pero la consecución de las condiciones adecuadas para el desarrollo de plantas *in vitro* ha exigido y sigue exigiendo largos años de experimentación para cada especie vegetal, ya que se requieren unas condiciones propias a cada una de ellas. El proceso puede iniciarse a partir de unas pocas células vegetales aisladas en un caldo nutritivo adecuado —con hormonas, nutrientes, en determinadas condiciones de temperatura, luz, acidez, etc.— para estimular repetidas divisiones celulares y obtener una especie de grumo amorfo, al que se llama «callo», constituido por múltiples células. El callo puede después dividirse en multitud de fragmentos, y éstos ser cultivados e inducidos —siempre en las condiciones adecuadas— para conseguir la propagación masiva de la planta inicial. Por ejemplo, a partir de un gramo inicial de callo de zanahoria se pueden conseguir 500 ejemplares, que pueden posteriormente ser plantados y desarrollarse ya de forma normal. Otro ejemplo lo tenemos en el frambueso; un meristema de frambueso, por cultivo *in vitro*, puede producir 50.000 plantas, mientras que por las técnicas clásicas de esquejes sólo se consiguen 50 plantas anuales. En el caso de meristemas de



melocotón-almendro, que sirve de portainjerto, y con difícil multiplicación por técnicas clásicas, se pueden conseguir un millón de plantas anuales.

Quizá uno de los casos más llamativos lo constituya la palma de aceite, no sólo por las dificultades técnicas que se han tenido que remontar, sino también por las repercusiones económicas que conlleva. En el período 80-81, la palma de aceite ocupaba el segundo lugar en la producción entre las plantas oleaginosas —después de la soja—, y cubrían en ese momento estas plantas grandes extensiones de las zonas tropicales húmedas de África, América y Sudeste Asiático. Esta planta puede vivir más de cien años, pero deja de ser rentable cuando alcanza una altura tal que no es posible la recolección directa de los frutos; además, en su fase juvenil —unos cinco años— no produce fruto. Todo ello significa que las plantaciones debían ser renovadas cada 25-28 años, y ello a su vez suponía la necesidad de millones de plántulas anualmente. A ello debe añadirse que al ser plantas de fecundación cruzada obligada, se presenta una gran variabilidad en la descendencia en cuanto a la producción de aceite. Pues bien, tras largos años de experimentación y una ingente cantidad de recursos puestos al servicio de la misma, los científicos de los laboratorios británicos Unilever pusieron a prueba en plantaciones de Malasia, en 1984, más de 1.000 plantas de elevado rendimiento y gran resistencia a enfermedades, obtenidas por cultivo *in vitro*. En 1978, según estimaciones de la FAO, el consumo medio de materias grasas por persona y año era de 20,6 kilogramos en los países industrializados y de sólo 5,5 en los países en vías de desarrollo. La palma de aceite se cultiva exclusivamente en esos últimos países, que consumen tres cuartos de la producción —el resto lo exportan—, por lo que las técnicas de clonación, que permitirían aumentar de forma importante la producción, podrían satisfacer, al menos en parte, el déficit que se presenta en habitantes de esos países con respecto a una dieta alimentaria equilibrada, sin olvidar las necesidades suplementarias debidas al crecimiento demográfico.

Los programas de repoblación forestal —tan acuciantes en nuestro país, con un proceso de desertización mayor que en ningún otro país europeo— son también una adecuada y productiva aplicación de estas tecnologías de cultivo *in vitro*. En EE.UU. hay programas de cultivo de tejidos de secuías, árboles de largo y lento crecimiento —pueden tardar de cien a doscientos años en conseguir su desarrollo total—. Se calcula que 100 litros de cultivo, pueden producir en tres meses suficientes pinos —variedad *Loblolly*— y abetos —variedad *Douglas*— para repoblar 50.000 hectáreas.

Pero el cultivo de tejidos vegetales no resulta sólo útil para la producción de plantas a gran escala y con un consumo de tiempo y espacio mucho menor. En la década de los setenta surge la idea de tratar las células vegetales en cultivo de forma similar a como se hace con bacterias y levaduras en los procesos de microbiología industrial, e intentar convertirlas en pequeñas fábricas de sustancias útiles.

Actualmente conseguimos de las plantas numerosas sustancias

químicas, desde perfumes y aromatizantes a medicamentos. Se calcula que aproximadamente un 25 por 100 de todas las recetas de medicamentos son extractos de plantas.

El doctor M. Fowler, de la Universidad de Sheffield —Instituto Wolfson de Biotecnología—, opinaba que el cultivo de tejidos solo es viable económicamente para ciertos productos caros (algunos alcaloides, opiáceos, perfumes...), pero a pesar de ello y según sus palabras:

«La mayor parte del material vegetal necesario para estos productos procede de plantaciones a gran escala, situadas a menudo en climas tropicales, y en regiones del mundo políticamente inestables. Si a esto añadimos las irregularidades del clima, la variabilidad de las cosechas, las posibles plagas de insectos o de microflora a gran escala, y los períodos generalmente largos que preceden al inicio de las cosechas, no es difícil comprender por qué el cultivo de células vegetales resulta una propuesta atractiva.»

Hoy las ventajas, especialmente las de tipo económico, en la fabricación de ciertas sustancias por medio de cultivo *in vitro* son considerables. Y su significado político importante: los países ricos en materias primas biológicas pueden dejar de serlo.

A partir de las hojas de la hierbadoncella de Madagascar (*Catharanthus roseus*) se consiguen ciertos alcaloides de la vincapervinca que son importantes en la quimioterapia de ciertos cánceres, como las leucemias y linfomas. Según determinados informes, se precisan más de 2.000 kilos de hojas para producir un solo gramo de alcaloide. En cultivo celular se consigue gran cantidad fácilmente, y además presentan estos cultivos una característica que en otros casos ha encarecido enormemente el proceso: se segrega la sustancia directamente al medio de cultivo, en lugar de acumularse en el interior celular, con lo que se evitan los procesos de extracción correspondientes con la destrucción celular.

Otro ejemplo lo ofrece la *Dioscorea*, que se recolecta en las junglas de América Central, y cuyas enormes raíces tuberosas originan la diosgenina, a partir de la que se producen corticoesteroides y esteroides sexuales, como los estrógenos y progesteronas utilizados en las píldoras anticonceptivas. Ahora ya se cultivan sus células en el laboratorio.

En Japón se cultivan células de tabaco en enormes recipientes de hasta 20.000 litros.

Otros proyectos de centros de investigación van encaminados a la obtención de aromatizantes sintéticos, y de *Papaver somniferum*, de la que se extrae el opio, fuente de la morfina.

Pero hay otro aspecto extraordinariamente importante en el cultivo celular, algo que ha despertado mucho menos interés en los profanos, con mucha menor divulgación que otros aspectos correspondientes a la Ingeniería Genética Molecular y que, sin embargo, puede resultar uno de los logros más importantes del género humano: la obtención de anticuerpos monoclonales (ACM) y su posibilidad de aplicación a métodos

de diagnóstico, lucha anticancerosa y problemas relacionados en general con el sistema inmunitario.

La respuesta inmunitaria —que se conoce sólo en vertebrados— consiste en la aparición de ciertas moléculas, los anticuerpos, como respuesta a la introducción en los tejidos del organismo de otra «molécula» extraña, el antígeno, con la que es capaz de reaccionar y a la que es capaz de neutralizar. Básicamente es un mecanismo de defensa frente a invasores, como bacterias, virus u otras sustancias. Los anticuerpos son fabricados por las diferentes estirpes de linfocitos B, en la médula ósea y en el timo —glándula situada bajo la laringe—; son proteínas complejas compuestas de 4 cadenas, con gran posibilidad de variabilidad; las respuestas inmunitarias son extraordinariamente heterogéneas, y altamente selectivas para cada tipo de antígeno.

Si se aislase una estirpe determinada de linfocitos y se cultivase *in vitro*, el clon obtenido produciría un anticuerpo concreto y sólo uno, un anticuerpo monoclonal. Pero desgraciadamente estas células no se mantienen en cultivo. Hay otras, sin embargo, que crecen con gran facilidad: las células de ciertos tumores malignos de la médula ósea —mielomas—, y que producen grandes cantidades de inmunoglobulinas específicas, monoclonales, aun cuando no se sepa a qué antígeno pueden corresponder.

La idea que surgió era la de realizar una fusión entre una célula de mieloma que puede conferir la propiedad de multiplicarse indefinidamente, y un linfocito, que por haber estado expuesto previamente a un antígeno particular fuese capaz de fabricar un concreto anticuerpo contra ese antígeno. Así, la célula híbrida tendría ambas propiedades. La tarea no resultaba fácil, pero, en 1975, Köhler y Milstein lograron aislar clones de células quimeras, llamadas hibridomas, que podían producir un tipo concreto de anticuerpo y además ser cultivadas de manera continuada. Tales clones se habían conseguido con la fusión de una célula tumoral, que confería «inmortalidad», y otra productora del anticuerpo deseado, ambas de ratón. Se había conseguido un anticuerpo monoclonal. Parece ser que antes de su publicación en *Nature*, Köhler y Milstein propusieron a las autoridades británicas competentes el registro de la técnica de los hibridomas, y que sólo después del silencio obtenido como respuesta hicieron su publicación. Con ello el gobierno británico perdió una oportunidad única de patentar algo que ha sido uno de los mayores hitos de la investigación contemporánea, y que empieza ya a producir grandes beneficios, sociales y económicos.

Las perspectivas que abrían estas técnicas eran casi infinitas, y las investigaciones prosiguieron.

Los clones pueden cultivarse *in vitro*, y el anticuerpo correspondiente recuperarse a partir del medio de cultivo. Incluso pueden conservarse clones por congelación.

Como hemos dicho, las aplicaciones de los anticuerpos monoclonales son enormes tanto en el campo del diagnóstico, de la producción de sustancias útiles, como en la dosificación de medicamentos, y en la lucha antitumoral en general. Por supuesto, también en el campo de la

investigación básica: estudio de la estructura de las membranas celulares, conocimiento mayor sobre el sistema inmunitario...

Se han utilizado los anticuerpos monoclonales en el marcaje e identificación precisa de neuronas, etiquetándolo radiactivamente y consiguiendo una imagen radiográfica. Esto podría utilizarse clínicamente para detectar anomalías neurobiológicas en fetos humanos a partir de una muestra de líquido fetal.

Una de las aplicaciones prácticas más importantes se relaciona con la fabricación de vacunas específicas. Así, se ha conseguido aislar los antígenos de superficie relacionados con la malaria y a partir de ahí se ha fabricado la vacuna. Este es un ejemplo interesante sociológicamente. La Universidad en la que trabajaban los investigadores que lograron la vacuna (R. y V. Nussenzweig, de la Universidad del Estado de Nueva York) intentó inútilmente conseguir un socio comercial para explotar el hallazgo, que debía estar dispuesto a aceptar las condiciones de la Organización Mundial de la Salud y de la Agencia USA para el Desarrollo Internacional. La finalidad era conseguir una vacuna barata para el Tercer Mundo, que es donde sufren esa enfermedad. Las pocas perspectivas que esto ofrecía de convertirse en un lucrativo negocio no atrajeron el interés de los inversores.

Las vacunas para muchas enfermedades del Tercer Mundo no existen, o resultan tan caras que no se producen. En los países ricos, no obstante, el interés de múltiples compañías en los anticuerpos monoclonales para detectar y fabricar vacunas para enfermedades que se dan en ellos es enorme. Se calcula que para 1990 el mercado en equipos de diagnóstico, sólo para células cancerosas, superará los 2.000 millones de dólares.

Celltech, la primera, y al menos hasta hace poco la única, compañía británica de Ingeniería Genética, lanzó al mercado en 1983 equipos de diagnóstico para determinar los grupos sanguíneos basados en los anticuerpos monoclonales. Hasta hace poco se requerían cientos de litros de suero humano, procedente de miles de donaciones, para obtener los anticuerpos necesarios para identificar los grupos sanguíneos A, B y O.

Una pequeña empresa estadounidense, situada en La Jolla, ponía a la venta en 1983 una prueba de embarazo, basada en los ACM, de uso personal, y que podía ser utilizada sólo dos días después del retraso menstrual, detectando en la orina la hormona correspondiente.

La posibilidad de una detección rápida de infecciones podría ser muy importante en el campo de las enfermedades de transmisión sexual, cada vez más frecuentes en los países desarrollados. También en 1983 se puso a la venta un equipo básico utilizando ACM, para la detección de clamidia (tan frecuente en EE.UU. como el herpes), al módico precio de dos dólares.

La seroterapia puede lograr una mayor eficacia con la administración de ACM.

También es importante la tecnología de los ACM en su posibilidad de aplicación para neutralizar la acción de los linfocitos responsables del

rechazo de injertos, o en la destrucción de los anticuerpos producidos en las enfermedades autoinmunes.

En la dosificación y selectividad en la aplicación de medicamentos abren los ACM un inmenso futuro. Podrían acrecentar enormemente la eficacia de los medicamentos sobre las células concretas en las que deben actuar, por ejemplo, células tumorales, y evitar al mismo tiempo los efectos secundarios, graves en muchos casos, de los tratamientos contra el cáncer. Se podrían cargar los ACM con fármacos o toxinas o compuestos radiactivos, que transportarían directamente al tumor, y cuyo objetivo sería matar las células cancerosas y sólo ellas, respetando los tejidos sanos, sin lesionarlos.

A partir de 1979 en diversos laboratorios se empezaron a fabricar ACM con reacción específica con los antígenos de ciertos cánceres. También por estas fechas se comienzan a emplear inmunoglobulinas radiactivas en terapia para enfermos de cánceres primarios de hígado inoperables.

En 1982 se presenta el primer caso de remisión de larga duración (diez meses) en un enfermo de linfoma tratado mediante ACM de ratón. Se piensa también su aplicación en la lucha contra el SIDA.

Sin embargo, todos ellos no pasan de ser, por el momento, más que resultados muy prometedores. Todavía quedan por resolver numerosos obstáculos. El primero de ellos se refiere a que no disponemos de anticuerpos de origen humano; todas las experiencias han sido realizadas con anticuerpos de ratón o anticuerpos policlonales de varias especies animales. Existe el peligro de que los anticuerpos transporten también fragmentos de proteínas del ratón que el organismo humano puede rechazar. Por tanto, la obtención de ACM de origen humano es de absoluta prioridad en este campo de la investigación.

Algo se ha hecho, se han conseguido fusionar células de mieloma de ratón con linfocitos de ganglios linfáticos —procedentes de un cáncer de mama—. Los hibridomas así obtenidos producían anticuerpos contra los antígenos del cáncer de mama, pero eran inestables, y perdían los cromosomas humanos, con lo cual, al perder la información genética correspondiente, ya no sintetizaban los anticuerpos.

Con todo, los logros y sobre todo las perspectivas de estas tecnologías pueden ir aún más allá de lo que hoy imaginamos. Se ha hablado incluso de una revolución terapéutica.

## ADN RECOMBINANTE

Y pasamos a la auténtica, o al menos la más llamativa y de más amplia divulgación, revolución biotecnológica molecular: la obtención de ADN recombinante. La posibilidad de «crear», por manipulación genética, nuevas combinaciones de material hereditario. Hoy podemos, en el laboratorio, unir artificialmente segmentos de ADN, fragmentos de material hereditario de diferentes orígenes, de distintas procedencias (distintos organismos de una misma especie, diferentes especies, inclu-

so entre organismos tan alejados filogenéticamente como bacterias y hombre...). Podemos «reprogramar» genéticamente hablando a los organismos. Las técnicas hasta ahora expuestas se basan en la explotación del fondo de genes existente; sólo con la Ingeniería Genética Molecular se nos ofrece la oportunidad de producir nuevas combinaciones. Potencialmente se podrían «crear» organismos de encargo.

Hoy somos capaces de romper las barreras de la evolución, de saltar por encima del resultado de esos procesos evolutivos que llevan actuando desde que la materia es «viva», y «crear» a nuestra voluntad nuevos organismos. Nuevos organismos con nuevas propiedades, conferidas por los fragmentos de material hereditario extraño introducidos, y que podría considerarse (según en qué casos), como ya hemos señalado, un «ultralamarckismo» dirigido por el hombre.

La metodología básicamente puede resumirse en los siguientes pasos, y cada paso tiene sus técnicas específicas, que han ido perfeccionándose en poco más de una década desde que se describe el primer caso:

1. Obtención del segmento de ADN de nuestro interés.
2. Obtención de un vector apropiado.
3. Unión de ambos segmentos de ADN: molécula de ADN recombinante, quimérico.
4. Hospedador adecuado.
5. Introducción de la molécula de ADN recombinante en ese hospedador.
6. Multiplicación: clonado.
7. Selección.
8. Expresión.

La estrategia experimental adecuada, los métodos apropiados en cada paso, dependerán de los problemas biológicos de cada caso concreto: la identificación y aislamiento o síntesis del ADN deseado, el vector apropiado —plásmidos, virus...—, las propiedades celulares del huésped, el deseo de clonación y/o expresión, etc. Analicemos con un poco más de detalle cada uno de esos pasos.

La obtención del fragmento de ADN deseado puede resultar ya fácil. Hoy disponemos de bibliotecas genéticas, genotecas, más o menos completas de distintos organismos. Lejos queda ya el tiempo, no tan lejano cronológicamente pero muy distante en términos de tiempo científico, en que el sueño del hombre era conseguir las características positivas de dos especies en un solo organismo en base a unir sus genomas (aloploides), con lo que se unía lo bueno y lo malo y surgían multitud de problemas en la «reproducción», en la obtención de «copias».

Básicamente, los fragmentos de ADN se pueden generar por cuatro métodos: 1) por troceo mecánico; 2) por medio de las enzimas endonucleasas de restricción; 3) por síntesis dirigida, a partir del ARN; 4) por síntesis química.

En último término los fragmentos de ADN se pueden conseguir a partir del genoma del organismo en cuestión que nos interese, troceándolo en pequeños segmentos —por corte mecánico o aplicación de endonucleasas de restricción—. Así, lógicamente, conseguimos multitud de fragmentos junto con el que nos puede interesar, y hay que aislar justo uno concreto. Para ello, precisamente, se utilizan las técnicas del ADN recombinante. Todos esos fragmentos se unen a vectores apropiados, se introducen en un huésped, generalmente *Escherichia coli*. Y de esta forma conseguimos un stock de células que llevan ese ADN recombinante —unión del vector más un fragmento del genomio correspondiente—, cada una de ellas con distintos fragmentos. Disponemos así del conjunto del genomio, troceado, y de cada segmento en una diferente célula, a partir de la cual se puede conseguir la multiplicación de los fragmentos —clonación—, y a partir de éstos, identificar y seleccionar justo el fragmento de nuestro interés. Así se construyen las genotecas. Se calcula que, por ejemplo, el ADN completo de un organismo como los humanos, se puede clonar en  $10^5$ – $10^6$  partículas de fago lambda. Según los expertos, a mediados de los noventa se habrán localizado y secuenciado prácticamente todos los genes de los 23 pares de cromosomas humanos, y se podrá disponer de una genoteca humana completa.

También se puede conseguir esa información genética que nos interesa a partir del intermediario entre genes y proteínas, a partir del ácido ribonucleico mensajero. El ARN-mensajero de una célula es representativo de los genes que están funcionando en esa célula, básicamente es una «copia» del ADN (hoy sabemos que el tema es más complejo). Tomándolo como modelo se construye su ADN complementario mediante la acción de una enzima transcriptasa inversa, y la polimerización posterior de la hélice de ADN sencilla.

Incluso, hoy, podemos efectuar la síntesis química de genes bien conocidos secuencialmente, lo que a su vez permite fabricar pequeños segmentos que pueden ayudar a la manipulación, como cebos para distintas enzimas, etc.

Uno de los elementos más importantes en estas metodologías es el «vector», generalmente un plásmido o un virus, que son segmentos de ácidos nucleicos que gozan de una cierta autonomía en el interior de la célula y que constituyen unidades de replicación (replicones), y que, lógicamente, poseen capacidad de transcribir y traducir su información genética. Para clonar en células humanas y de otros mamíferos, el vector más utilizado ha sido el virus SV40, aunque actualmente se trata de obtener otros vectores a partir de otros virus (retrovirus, virus polioma, etc.). En *Escherichia coli*, el organismo más utilizado, con diferencia, como hospedador, los vectores son fundamentalmente plásmidos y el bacteriófago lambda. Y últimamente se experimenta con la posibilidad de utilizar elementos transponibles (transposones: secuencias de material hereditario que saltan de un lugar a otro del genomio) como vectores en plantas. En cualquier caso, la elección del vector apropiado es dependiente, en gran medida, de la célula que actuará como hospedadora, y debe reunir, básicamente, las siguientes propiedades: constituir un

replicón, ser capaz de replicar (secuencias específicas, generalmente de unos 500 pares de bases que interaccionan con determinadas enzimas); en muchos casos, poseer algún marcador genético; contener lugares de anclaje para las enzimas correspondientes, en los que el ADN extraño pueda ser insertado; contener elementos de control para la expresión del ADN clonado en caso de que se desee, como promotores, puntos de puente de ribosomas, etc.; y, lógicamente, resulta extraordinariamente útil conocer, si es posible, su secuencia. Hoy se han desarrollado vectores en una amplia variedad de sistemas biológicos, desde microorganismos (*E. coli*, *Streptomyces*, *B. subtilis*, levaduras...) a plantas, células y organismos eucariontes superiores, incluyendo humanos.

El paso siguiente, tras la obtención del fragmento de ADN que nos interesa y el vector apropiado, consiste en la unión de esos segmentos de ADN a ese vector, que implica la formación de cuatro puentes fosfodiéster, lo que se puede llevar a cabo *in vivo* o *in vitro*. Este paso se inició en 1967 con las ADN ligasas, enzimas que unen extremos libres de ADN; se mejoró sensiblemente con la formación de extremos monocatenarios complementarios en el ADN, mediante la acción de las terminal transferasas, y alcanzó su punto culminante con el descubrimiento de las endonucleasas de restricción, que valieron el premio Nobel, como ya hemos dicho, a sus descubridores, y que permitieron al equipo de Cohen obtener por primera vez moléculas de ADN recombinante biológicamente funcionales. Las endonucleasas de restricción (restringidas) poseen la propiedad de reconocer secuencias específicas en el ADN por las que rompen las dos cadenas de forma simétrica respecto a un punto, pudiendo realizar la rotura en forma roma o en bisel, según que los lugares de corte de ambas cadenas queden enfrentados o no. Ello permite la formación de extremos cohesivos en esos segmentos de ADN que queremos unir en una sola molécula quimérica. Desde que se aisló aquella primera restringida del bacilo *Haemophilus influenzae* hasta hoy, se han aislado multitud de endonucleasas de restricción que cortan secuencias definidas, a partir de unas 230 especies de bacterias, con más de 90 dianas distintas (punto que reconocen para el corte).

Necesitamos también, una vez conseguida la molécula de material hereditario quimérica, un hospedador adecuado, que hasta ahora ha sido, principalmente, aunque no exclusivamente, sobre todo en los últimos años, un microorganismo, *E. coli*. Hoy ya se utilizan como hospedadores, microorganismos, además de *E. coli*, *B. subtilis*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, también levaduras (*Sacharomyces cerevisiae*) e incluso células y organismos eucariontes, plantas y animales, incluido el hombre.

Y la introducción de las moléculas recombinantes, moléculas quimera, en las células huésped —u organismo—, que generalmente se realiza a imitación de los procesos naturales en bacterias, como la transformación o transducción, principalmente.

Lo que interesa a continuación, generalmente, es la obtención de muchas réplicas de ese ADN recombinante, el clonado, es decir, la réplica de esa molécula quimérica, bien con la replicación del propio ADN



celular o bien de forma más autónoma. Así podemos conseguir clones, incluso millones de células con esa información «añadida».

Pero con todo lo expuesto no quedan superadas las dificultades: la información genética introducida debe expresarse en ese ambiente genético que no es el suyo estrictamente, en esa nueva situación heteróloga. Debe ser capaz de transformar esa información en forma de secuencia nucleotídica, en secuencia aminoácida, en proteínas. Y ello resulta posible debido a que el material hereditario, los procesos genéticos, y, en definitiva, el código genético, como hemos ya expresado, son universales (con alguna ligera matización), son básicamente los mismos para todos los seres vivos, plantas y animales, desde las bacterias al hombre.

El poder de estas tecnologías, sospechado desde el primer momento, ha hecho que la polémica y la preocupación le haya acompañado desde el comienzo. Inicialmente fueron los propios investigadores, que propusieron una moratoria, y la creación de barreras físicas y biológicas (conferencia de Asilomar, 1975), ante el temor de que microorganismos modificados se escapasen del laboratorio y constituyesen un grave riesgo para la humanidad. Los NIH de EE.UU. proponen las primeras normas. Incluso el Congreso USA dicta las primeras leyes al respecto. Diferentes gobiernos de distintos países elaboran informes. El público en general se involucra en el debate.

En la década actual, se flexibilizan las inicialmente propuestas normas, y aparecen nuevas polémicas. En relación con la comercialización y secreto en investigación, en relación con la verificación fuera del laboratorio de la eficacia de microorganismos modificados para comprobar sus efectos en la naturaleza (resistencia frente a condiciones naturales y otros microorganismos, capacidad de actuación sobre, por ejemplo, la cosecha deseada, etc.), y en relación con la actuación directa sobre la especie humana: la modificación de células somáticas o incluso germinales (eufenesia y eugenesia). A final de 1980, los secretarios generales del Consejo Nacional de Iglesias, el Consejo de Sinagogas de los EE.UU. y la Asamblea Católica, escriben al entonces Presidente Carter en la pretensión de que se investigara la ingeniería genética aplicada al hombre, se sometiera a control o incluso se prohibiera.

Pero en definitiva, y de ahí la enorme polémica que levantan, estas técnicas —con mayores o menores modificaciones y progresos— abren, han abierto ya, un vasto campo a la investigación básica y aplicada. Respecto a la básica, nos permitirán conocer mejor la estructura y función génica, la expresión y regulación de la actividad de los genes, su localización, nos abre la posibilidad de la mutagénesis dirigida, *in vitro* (un campo también con posibilidades de aplicación), etc. Respecto a la aplicada, tanto en agricultura y ganadería como en industria y medicina, en la producción energética como en la lucha contra la contaminación, sus posibles aplicaciones son incalculables. Se obtienen sustancias diversas, hormonas, vacunas, etc., fabricadas por microorganismos. Se modifican o tratan de modificar plantas para resistencias a condiciones adversas, a agentes patógenos, a herbicidas, e incluso se busca la posibilidad de su

autofertilización. Se trabaja en conseguir animales con mejores cualidades: crecimiento, fertilidad, menos grasas saturadas, etc. Y, por supuesto, se busca la posibilidad de la terapia de genes humanos. Vamos a detenernos en algunos casos concretos.

Inicialmente, con las técnicas del ADN recombinante se consiguió introducir información genética de otros organismos en bacterias, y fundamentalmente en *E. coli*. Los microorganismos han pasado a ser fábricas de productos génicos, en muchos casos humanos. Son las «nuevas masas trabajadoras».

Las enzimas que controlan las reacciones químicas en los seres vivos, incluso la propia fabricación de la materia básica de la vida: el ADN, pueden hoy sintetizarse a partir de microorganismos. Por ejemplo, a partir de amilasas (se encuentran de forma natural en boca y estómago y ayudan a descomponer los almidones en glucosa) se producen edulcorantes para bebidas no alcohólicas y productos de confitería. La amilasa se encuentra en *B. subtilis* y se obtiene fácilmente a temperatura ambiente, pero el calor la destruye. La posible inserción del gen de la amilasa en bacterias termofílicas (resistentes al calor) solucionaría el problema.

La microbiología industrial clásica se ve hoy invadida por multitud de «nuevos» microorganismos contruidos por el hombre con finalidades funcionales concretas.

Pero hoy, las bacterias también fabrican productos humanos. Entre los primeros productos sintetizados por bacterias con genoma modificado, a finales de los setenta, se encuentra la insulina. Existen 60 millones de diabéticos en el mundo que son insulino dependientes, debido a la destrucción de sus células que segregan la hormona —islotos de Langherans del páncreas—. Antes había que extraer la insulina del páncreas de cerdo o bovino, hoy está a la venta por compañías de ingeniería genética (fue el primer producto de clonación puesto a la venta); también fue la primera proteína animal producida en bacterias con estructura absolutamente idéntica a la natural.

Otra importante hormona fabricada hoy por ingeniería genética molecular es la somatotropina u hormona del crecimiento, segregada normalmente por el lóbulo anterior de la hipófisis, y que antes debía de aislarse a partir de hipófisis humanas extirpadas *post mortem* o a partir de cerebros de cordero. La falta de esta hormona causa enanismo, y se calcula su frecuencia en países occidentales entre 7-10 por millón. Cuando antes se necesitaban 100 toneladas de cerebros de cordero para conseguir 5 miligramos de la hormona, hoy se puede conseguir con 100 gramos de colibacilos en un fermentador de 8 litros.

La producción de vacunas (recordemos que es una de las más importantes aplicaciones de los ACM) es otro de los campos más desarrollados. Desde un simple resfriado, pasando por vacunas contra la difteria hasta contra la hepatitis B, que constituye un grave problema para la sanidad pública debido a la posibilidad de transmisión de la madre al feto, diversos laboratorios y empresas trabajan para su obtención. Y no debemos olvidar un azote de la moderna civilización: el

SIDA, para la lucha contra el cual también se está trabajando a nivel de la ingeniería genética molecular, y posiblemente los avances que se consigan vengan a través de estas tecnologías.

También en el campo de la producción de sustancias inmunogénicas y diversos factores sanguíneos. Se ha conseguido clonar interferón, en 1980. El interferón es una proteína, mejor una familia de proteínas, que es liberada por células expuestas a un virus, y que permite a otras células adquirir resistencia a la infección vírica. Las posibilidades antivíricas eran importantes y su efecto prolongado, pero las células lo segregaban en cantidades muy pequeñas y en múltiples formas. Tras su clonación con las técnicas de ADN recombinante, comenzaron los primeros ensayos sobre su aplicación y efectos. La relación de ciertos tipos de virus con algunas formas de cáncer nos da una idea de la importancia del tema (aunque inicialmente los investigadores eran más optimistas que hoy).

Los trabajos para conseguir factores de coagulación de la sangre, anticuerpos y distintas hormonas han dado ya frutos y las perspectivas son esperanzadoras.

Por supuesto, en principio, la técnica permitiría clonar casi cualquier gen, y obtener por tanto cualquier producto génico. La importancia derivada en medicina e industria farmacéutica es evidente.

Además de sintetizar, los microorganismos se podrían utilizar en la degradación y/o en la conversión de desechos y subproductos agrícolas e industriales. Y así se hace en microbiología industrial, pero ahora las técnicas de ADN recombinante permiten mayor eficacia o la posibilidad de nuevas transformaciones, de manera que estos subproductos pudiesen convertirse en fuente energética, en compuestos fermentables o incluso en proteínas. Según datos de la ONU de 1978, se calculaba que los cereales cultivados en el mundo producen 1.700 millones de toneladas de paja al año, la mayor parte de la cual no se utiliza; podría sacársele algún rendimiento. En la lucha directa contra la contaminación ya se obtienen resultados, hay bacterias con distintos plásmidos con la propiedad de degradar hidrocarburos. Hay casos en que hoy no es posible su degradación, pero sí se pueden destoxificar, por ejemplo, por fosforilación, metilación, etc. (las enzimas que controlan estas reacciones suelen estar contenidas en genes de plásmidos). En principio, la posibilidad de conseguir cepas de microorganismos capaces de descomponer numerosos productos es factible.

Pero no sólo pueden modificarse genéticamente microorganismos; actualmente también podemos conseguir plantas y animales transgénicos, con información genética añadida.

En el campo agrícola las posibilidades de aplicación son casi ilimitadas y el futuro optimista. Conseguir plantas resistentes a diversos agentes patógenos, a herbicidas, incluso capaces de desarrollarse en ambientes pobres, tolerantes a la sal, a la sequía, a las heladas, etc. Pero el sueño se fija en dotar de información genética a plantas cultivadas para que sean capaces de fabricar sus propios fertilizantes. En leguminosas y otras dicotiledóneas, se encuentran unas bacterias radicales, *Agrobac-*

*terium tumefaciens*, que contienen un plásmido (Ti) que puede ser transferido al genoma nuclear de las plantas infectadas, y que poseen genes con información para provocar la fijación del nitrógeno atmosférico. Es decir, *Agrobacterium* actúa como un ingeniero molecular natural. La investigación actual se centra en el interés de conseguir asociaciones entre bacterias fijadoras, *Agrobacterium* u otras bacterias a las que por ingeniería genética se les ha podido pasar la información de los genes correspondientes, y plantas cultivadas, fundamentalmente cereales (monocotiledóneas). O incluso, conseguir la transferencia en un futuro de los genes de fijación del nitrógeno, de las bacterias a las plantas. Por el momento hay múltiples problemas: regenerar plantas completas si se han utilizado protoplastos, la pérdida del vector, la expresión, etc. Pero el tema es de tal importancia social y económica que, por ejemplo, en 1980 el Ministerio de Agricultura de EE.UU., de todas las subvenciones que concedió para trabajos en biología vegetal, el 25 por 100 fue a temas en relación con la fijación del nitrógeno.

Igual que se añade información genética, también puede suprimirse, y un ejemplo lo tenemos en las investigaciones realizadas para suprimir de ciertas bacterias el gen que codifica para una proteína, llamada «simiente», sobre la que se forman cristales de hielo. Dicha proteína es producida por las mencionadas bacterias que invaden las células de cítricos y otras plantas cuando las temperaturas bajan. En 1984 se realizó la primera aplicación práctica en el campo.

Y pasando al mundo animal, también aquí se tienen logros, aunque todavía a nivel experimental, a nivel de laboratorio. La obtención y expresión de información genética de animales superiores en cultivos celulares ya se logró, pero conseguir animales transgénicos, con la información adquirida en todas sus células e incluso la capacidad de transmisión a la descendencia, no es fácil. Uno de los problemas fundamentales que se plantean es cómo se introduce la información extraña en la célula eucariótica. Se están utilizando diversas técnicas, cada una con sus problemas y según el sistema biológico: por microinyección en el óvulo; por técnicas de «transporte», utilizando transposones, que son secuencias de ADN que cambian de posición en el genoma, como ya hemos dicho, que saltan, técnica que ha sido un éxito en *Drosophila*; con retrovirus (virus ARN) que poseen ciertas cualidades similares a los transposones, son capaces de insertarse en el genoma, de hecho necesitan integrarse en los cromosomas animales para efectuar su ciclo; con adenovirus, y recientemente incluso con un plásmido bacteriano, se ha pasado información a un embrión de ratón.

Así se han conseguido ratones, cerdos (1986), conejos. Y se están desarrollando las técnicas en acuicultura para diversas especies de vertebrados e invertebrados.

Un interesante proyecto internacional, financiado por la CEE, trata de conseguir, por transgénesis, cambiar la composición de los lípidos de los animales que consumimos, introduciendo en su genoma la información genética, el gen, de una enzima (como la Delta-12-desaturasa), que se encuentra de forma natural en levaduras, y que puede hacer aumen-

tar el nivel de grasas poliinsaturadas de estos animales; grasas que resultan más sanas al consumidor humano. Las grasas saturadas son nocivas para el sistema cardiovascular y principales responsables de la arterioesclerosis y su consecuencia, el infarto de miocardio.

Además de los problemas de conseguir vectores adecuados o técnicas apropiadas de introducción de la información genética, los mecanismos de integración del ADN extraño en el genoma animal son desconocidos, y existe la posibilidad de que esa integración active otros genes o interfiera en la información normal del organismo. Y no olvidemos la complejidad del genoma de estos organismos.

Pero si manipulamos el material hereditario de otros organismos, ¿por qué no el humano? Ya hemos hablado de la producción de sustancias correspondientes a genes humanos por parte de microorganismos. Se conocen más de 3.000 enfermedades genéticas en el hombre causadas por genes defectuosos que determinan la síntesis de proteínas, a su vez, defectuosas. La única posibilidad de curación real, aparte del tratamiento ambiental de sus efectos (que no siempre es posible), se daría si se corrigiese el error en la molécula de ADN responsable de la enfermedad, o si se lograra la transferencia de un gen funcional normal a las células defectuosas. Desde el primer momento ha resultado evidente que la extensión de la ingeniería genética molecular a los mamíferos podría conducir a la terapia de genes —somática— en pacientes humanos, una especie de «eugenesia somática», o «eufenesia génica». Eugenesia tiene el sentido de «mejora», perfección, a nivel de genes, en definitiva, mejora de la constitución genética humana; eufenesia tiene el sentido de «mejora» o perfección, pero a nivel de la manifestación de esos genes, es decir, a nivel del fenotipo.

Los problemas todavía son muchos y a pesar de la experimentación *in vitro*, en cultivos celulares, la aplicación a pacientes aún no está lista. Aun así, se han llevado a cabo algunas tentativas *in vivo*, en pacientes. En Alemania se trató a dos niños que padecían argininemia, una enfermedad que produce cierta alteración del ciclo de la urea como consecuencia de la falta de la enzima arginasa. Se les inyectó partículas virales infecciosas, pero no patógenas, que portaban el gen normal capaz de sintetizar la arginasa. No hubo éxito. Otro caso lo constituye el del escándalo provocado por un investigador estadounidense que, antes de conseguir el permiso del comité correspondiente para el tratamiento experimental en pacientes, decidió realizarlo con enfermos de otros países menos exigentes en este sentido. Y así trató con ADN recombinante a dos pacientes de talasemia, una grave enfermedad de la sangre, uno de Italia, otro de Israel. El escándalo fue grave. Y la polémica de utilizar humanos como conejillos de indias está sobre la mesa (recientemente hemos vivido este tema con información procedente de Francia). Hay que añadir, además, que no tuvo éxito el tratamiento.

En este tipo de técnicas, el procedimiento es realmente costoso. Habría que identificar y localizar el gen defectuoso. Hoy se dispone de un catálogo de más de 3.500 genes humanos identificados y gran parte localizados, asignados a un concreto cromosoma o incluso a un lugar

dentro del cromosoma. Habría que aislar el gen normal alternativo, a partir de células normales, clonarlo en células animales en cultivo o en microorganismos para conseguir una reserva. A continuación, insertar el gen normal en un vector, generalmente un virus, que sea capaz de introducirlo en las células del paciente donde debe funcionar, por ejemplo, hígado, sangre, etc. Hay que conseguir que una vez en el interior de esas células el gen actúe correctamente, es decir, debe insertarse en puntos concretos, en puntos donde sus efectos no sean dañinos, donde no altere otros genes, con las secuencias de control adecuadas, etc. Y, por último, debemos conseguir que ese gen se exprese, dé lugar al producto génico correspondiente, que es el necesario para un funcionamiento normal de la correspondiente actividad. Y aún queda otro punto, esos genes añadidos deben transmitirse con la división celular, deben replicar, no perderse.

Los candidatos más inmediatos son las enfermedades producidas por deficiencias hemoglobínicas, como por ejemplo la anemia falciforme y otras. Se conoce su secuencia aminoácida y su constitución y localización. Se extraerían células de la médula ósea del paciente, se les insertaría el gen normal y se reintroducirían de nuevo en el enfermo. Por ejemplo, se ha conseguido la expresión del gen de la beta-globina del conejo en una línea celular de mono. El gen de la betaglobina humana es de particular importancia, ya que algunas de sus mutaciones son responsables de enfermedades como las ya nombradas de la anemia falciforme y la talasemia beta, dos graves alteraciones hereditarias de las células sanguíneas.

Es evidente que la problemática resulta compleja y necesitamos todavía una gran información en genética básica: sistemas de regulación, secuencias de control, mecanismos de inserción genómica, etc.

El paso siguiente: curar defectos en las células germinales. Una auténtica eugenesia. La técnica descrita implica una terapia somática sobre los órganos afectados, pero el paciente sigue poseyendo el defecto genético y transmitiéndolo a su descendencia. La corrección a nivel de células germinales o embriones significaría la curación real, total, del individuo y su descendencia; no habría necesidad de repetir la terapia con los hijos, puesto que éstos serán genéticamente sanos. Sería necesaria la manipulación del huevo fecundado fuera del cuerpo, y su posterior reimplantación. En este caso, obviamente, aumenta la complejidad de los problemas ya enumerados, y surgen nuevas dificultades y, sobre todo, graves problemas éticos.

En principio no es pensable que nadie se oponga a una terapia somática con ADN recombinante, sería un tratamiento médico más, pero la manipulación de embriones o células germinales se enfrenta con muchas dudas éticas y legales.

Además, igual que hablamos de curar defectos producidos por un solo gen, puede surgir la idea de que podrían «mejorarse» también «cualidades generales» (eugenesia en su amplio sentido), bajo las que realmente no se encuentran defectos genéticos concretos identificables. Por ejemplo, la longevidad. Si en alguna medida el envejecimiento se debe a

rupturas en el ADN, la introducción en nuestras células de copias adicionales del(os) gen(es) de las enzimas reparadoras podría hacer que envejeciésemos más lentamente. Pero esto podría llevar más lejos ¿por qué no mejorar, «realzar» (según epíteto utilizado por un escritor de ciencia-ficción) cualidades como la inteligencia, la agresividad, etc.? Evidentemente, aquí llegamos de momento a la ciencia-ficción. Los muchos factores genéticos implicados, las interacciones entre ellos y el ambiente social, cultural, etc., sin olvidar la problemática logística que se plantearía de aplicar la ingeniería genética molecular a grandes masas de población, nos lleva a problemas irresolubles, técnicos y éticos.

Otro campo de aplicación de la ingeniería genética molecular en la especie humana sería el del diagnóstico. Detectar en adultos, o incluso embriones nonatos, la presencia de enfermedades hereditarias mediante sondas de genes (Corea de Huntington, fibrosis quística, fenilcetonuria, enfermedad de Tay-Sachs, anemia falciforme, talasemia beta, etc.). Por ejemplo, la fibrosis quística se presenta en 40-50 de cada 100.000 nacimientos entre los europeos del Norte. La anemia falciforme y la talasemia, que afectan a las células sanguíneas, son de las enfermedades más comunes producidas por un gen único, de 1.000 a 2.000 casos por cada 100.000 nacimientos; sólo en EE.UU. se calcula que uno de cada 20 negros posee el gen deficiente. Con estas técnicas de diagnóstico lógicamente se relaciona la problemática abortista si el feto es portador de una grave alteración. Pero también se pueden utilizar, en adultos; por ejemplo, ya hay en el mercado instrumentos de diagnóstico basados en el ADN recombinante para enfermedades transmitidas sexualmente. Otro ejemplo: la enfermedad Corea de Huntington, degenerativa del sistema nervioso, presenta sus efectos en edades maduras, cuando ya el individuo afectado ha podido tener hijos y por tanto transmitir la enfermedad; un diagnóstico temprano y la información correspondiente puede permitir al individuo elegir libremente, sabiendo los riesgos, su propia reproducción o no. En este apartado entra de lleno el llamado «consejo genético», que hace ya largo tiempo se practica con la información proporcionada por técnicas clásicas.

Otro aspecto de la aplicación de las técnicas del ADN recombinante es la «identificación» biológica de los individuos, el poder establecer el DNI genómico de los individuos. El control sobre el ciudadano, su reconocimiento sin ningún género de dudas, y las implicaciones legales, son evidentes.

Y otro sueño: la mutagénesis dirigida. El modificar la secuencia nucleotídica en el ADN a nuestro antojo. No habría necesidad de introducir nueva información «sana», o «mejor»; se podría hacer cambiar al gen deficiente *in situ*. Sería ya una manipulación a nivel de ultraestructura genética. Hoy esto se encuentra muy lejos de la realidad, aunque la experimentación sobre cultivos celulares *in vitro*, como ya hemos dicho, se realiza.

Y debemos terminar haciendo necesaria referencia a las posibilidades de los biosensores y biochips, ya no ingeniería genética estrictamen-

te hablando, pero sí biotecnología avanzada, la simbiosis entre electrónica y biología. La nueva generación de biosensores miniatura (FET=*field effect transistors*) son dispositivos con membranas sensibles a moléculas orgánicas o a iones. La empresa Johnson & Johnson, a principios de los ochenta, junto con investigadores de la Universidad de Utah (EE.UU.), inició un programa para poner a punto un detector de iones de calcio; la presencia de estos iones en la sangre puede ser un anuncio de ataque cardíaco. Otro ejemplo: se podría introducir el biosensor en un paciente con úlcera gástrica, que podría emitir lecturas de la acidez del estómago. Otro: el control de la corrosión en oleoductos y depósitos petrolíferos.

El caso del biochip, que nace también a principios de los ochenta, pretende utilizar materia viva para sustituir al silicio y reducir los componentes activos de los ordenadores a nivel molecular. Una posible aplicación: devolver una visión parcial a los ciegos. En palabras del doctor J. McAlear, presidente de Gentromix:

«Queremos construir un ordenador biológico tridimensional que pueda diseñarse y ensamblarse a sí mismo con los mismos medios comunes a todos los seres vivos, utilizando el ADN como plano constructivo.»

## CONCLUSION

Todo lo expuesto no es más que un breve repaso a los diversos campos y los potenciales de aplicación de la biotecnología. Las posibilidades son incalculables, según un estudio Delphi de 1981 (Stewman, Lincoln *et al.*); los progresos serán espectaculares: se conseguirán plantas fijadoras de nitrógeno antes de 1995, se logrará corregir defectos genéticos, y se aplicará la terapia genética entre el año 2000 y el 2045, los procesos de senescencia se conocerán bastante bien en el año 2000, etc. Las proximidades de muchas de las fechas previstas en ese informe resultan asombrosas.

En cualquier caso, la excesiva divulgación profana de descubrimientos llamativos, donde no se exponen los problemas y dificultades técnicas subyacentes, no contribuye a una visión objetiva y exacta de las posibles aplicaciones biotecnológicas. No puedo terminar sin volver a recordar las dificultades que aún hoy nos encontramos lejos de resolver en el laboratorio, cuanto más en la aplicabilidad o comercialización de los descubrimientos.

En informe de la OCDE (1979):

«Ciencia y Tecnología... tienen un número de características distintivas que causan especiales problemas o complicaciones... Están a la cabeza del cambio social... Ponen, sin embargo, especiales retos



a cualquier sociedad que busca conformar su propio futuro y no sólo reaccionar al cambio o a los efectos, a veces indeseados, del cambio.»

En términos biológicos es muy posible que estemos en la frontera de la primera revolución llevada a cabo por el hombre que tenga unos efectos mucho más profundos que los cambios históricos producidos por razones políticas, o que la Revolución Física. Si se consolida esa revolución, y parece evidente que así ocurrirá, los valores morales, los criterios sociales actualmente imperantes no podrán sobrevivir sin una profunda transformación, y lo que hoy se nos presenta como una revolución científica conducirá inevitablemente a profundas transformaciones sociales. Como ya se ha dicho, «el hombre crea las herramientas y las herramientas cambian al hombre».

Y quisiera terminar con una frases que ya utilicé en otra ocasión en referencia a estos temas.

Mirando a esta ciencia del siglo XXI, se despierta un sentimiento dual, de temor y de esperanza. Las implicaciones de esta manipulación escapan del mundo científico, salen de los laboratorios e inundan las estructuras legales y los principios éticos. Es el momento de una reflexión social; más allá de la Biología, más allá de los científicos, la decisión corresponde a toda la humanidad. En definitiva, como he dicho en otro momento de este trabajo, las ciencias biológicas son ahora también ciencias sociales.

## BIBLIOGRAFIA

- ABELSON, J. (1980): «A revolution in biology», *Science*, 209: 1319-1321.
- AVERY, O. T.; McCLEOD, C. M., y MCCARTY, M. (1944): «Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types», *J. Exp. Med.*, 79: 137-158.
- BERG, P.: «Genetic engineering: challenge and responsibility», *Ambio*, 6, 5: 253-261.
- BERG, P.; BALTIMORE, D.; BRENNER, S.; ROBLIN III, R. O., y SINGER, M. F. (1975): «Summary statement of the Asilomar Conference on recombinant DNA molecules», *Proc. Nat. Academy of Sciences* (Washington), 72, 6: 1981-1984.
- BOTSTEIN, D., y DAVIS, R. W. (1982): «Principles and practice of recombinant DNA research with yeast», en J. N. Strathern, E. W. Jones y J. R. Broach (eds.), *The Molecular biology of the yeast Saccharomyces: Metabolism and gene expression*, Cold Spring Harbor, 607-636.
- BRIGGS, R., y KING, T. J. (1952): «Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frog eggs», *PNAS*, 38: 455-463.
- BULL, A. T.; HOLT, G., y LILLY, M. D. (1984): *Biotecnología. Perspectivas y tendencias internacionales*, Ed. Academia.
- COHEN, S. N. (1977): «Recombinant DNA: fact and fiction», *Science*, 195: 654-657.
- COHEN, S. N., et al. (1973): «Construction of biologically bacterial plasmids in vitro», *PNAS*, 70: 3240-3244.
- DENNISTON, K. J., y ENQUIST, L. W. (eds.) (1981): *Recombinant DNA*, Benchmark Papers in Microbiology/15, Dowden, Hutchinson & Ross Inc.

- EVANS, J. W., y HOLLAENDER, A. (eds.) (1986): *Genetic engineering of animals: an agricultural perspective*, Plenum Press.
- FEHILLY, C. B., et al. (1984): *Nature*, 307: 634-636.
- FRANKEL, M. S. (1976): «Human-semen banking: social and public policy issues», *Man and Medicine*, 1, 4: 289-309.
- FUCHS, R., y BLAKESLEY, R. (1983): «Guide to the use of type II restriction endonucleases», en R. Wu et al. (eds.), *Methods of enzymology*, Academic Press, New York, vol. 100, 3-38.
- GALDEANO, J.; FUEYO, B., y ALMARZA-MENICA, J. M. (coords.) (1987): *Innovaciones científicas en la reproducción humana. Aspectos biológicos, psicosociales, antropológicos, éticos y jurídicos*, Fund. Friedrich Ebert.
- GILBERT, W., y VILLA-KOMAROFF, L. (1980): «Useful proteins from recombinant bacteria», *Scient. Amer.*, 242, 4: 68-82.
- GOEDEL, D. V., et al. (1979): «Direct expression in *E. coli* of DNA sequence coding for human growth hormone», *Nature*, 281: 544-548.
- GOEDEL, D. V., et al. (1980): «Human leukocyte interferon produced by *E. coli* is biologically active», *Nature*, 287: 411-416.
- GROBSTEIN, C. A. (1979): *A double image of the double helix: The recombinant DNA debate*, Freeman & Co.
- HALL, S. S. (1987): *Invisible frontiers: The race to synthesize a human gene*, Atlantic M. Press.
- HELINSKI, D. R. (1978): «Plasmids as vehicles for gene cloning: impact on basis and applied research», *Trends Biochem. Sci.*, 3: 10-14.
- HOPPE, C. P., y ILLMENSSE, K. (1977): «Microsurgically produced homozygous-diploid uniparental mice», *PNAS*, 74: 5657-5661.
- ILLMENSSE, K., y HOPPE, P. C. (1981): «Nuclear transplantation in *Mus musculus*: Developmental potential of nuclei from preimplantation embryos», *Cell*, 23: 9-18.
- ITAKURA, K. (1982): «Chemical synthesis of genes», *Trends Biochem. Sci.*, 7: 442-445.
- ITAKURA, K., et al. (1977): «Expression in *Scherichia coli* of a chemically synthesized gene for the hormone somatostatin», *Science*, 198: 1056-1063.
- JACKSON, D. A., y STICH, S. P. (1979): *The recombinant DNA debate*, Prentice Hall.
- KIEFFER, G. B. (1979): *Bioethics. A textbook of issues*, Addison-Wesley Publ. (versión castellana por Alhambra, 1983).
- KÖHLER, G., y MILSTEIN, C. (1975): «Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity», *Nature*, 256: 495-497.
- KRIMSKY, S. (1982): *Genetic Alchemy: The social history of the recombinant DNA controversy*, MIT Press, Cambridge (Mass.).
- MANIATIS, T. (1980): «Recombinant DNA procedures in the study of eukaryotic genes», en Goldstein y Prescott (eds.), *Gene expression: the production of RNA's*, Academic Press, New York, vol. 3: 563-608.
- MINTZ, B. (1967): «Gene control mammalian pigmentary differentiation. I. Clonal origin of melanocytes», *PNAS*, 58: 344-351.
- MOTULSKY, A. (1983): «Impact of genetic manipulation on society and medicine», *Science*, 219: 135-140.
- NATHANS, D. (1979): «Restriction endonucleases, simian virus 40, and the new genetic», *Science*, 206: 903-909.
- NOWINSKI, R. C., et al. (1983): «Monoclonal antibodies for diagnosis of infectious diseases in Humans», *Science*, 219: 637-644.
- OCHANDO, M. D. (1984): «Mendel: futuro de la genética (control genético y especie humana): Moléculas y Humanidad», *Publ. R. S. Econ. Amigos del País*, Valencia.
- OFFICE OF TECHNOLOGY ASSESSMENT (1982): *Genetic technology. A new frontier*, Westview Press.
- PALMITER, R. D., et al. (1982): «Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion gene», *Nature*, 300: 611-615.
- SASSON, A. (1984): *Las biotecnologías: desafíos y promesas*, UNESCO.
- SETLOW, J. K., y HOLLAENDER, A. (eds.) (1979-1982): *Genetic Engineering. Principles and methods*, vols. 1-4, Plenum Press.

- SOLTER, D. (1987): *Trends Genet.*, 3: 23-27.
- STEBBINS, G. I. (1982): *Darwin to DNA, Molecules to Humanity*, Freeman.
- STEWMAN, S., *et al.* (1981): «Recombination DNA breakthroughs in agriculture, industry and medicine. A Delphi study», *Futures*, 13, 2: 128-140.
- SYLVESTER, E. J., y KLOTZ, L. C. (1987): *The gene age. Genetic engineering and the next industrial revolution*, Collier McMillan Publ.
- VILLA-KOMAROFF, L., *et al.* (1978): «A bacterial clone synthesizing proinsulin», *PNAS*, 75: 3727-3731.
- WATSON, J. D., y CRICK, F. H. C. (1953): «Molecular structure of nucleic acids: structure for deoxyribose nucleic acid», *Nature*, 171: 737-738.
- WATSON, J. D., y TOOZE, J. (1981): *The DNA story*, Freeman & Co.
- WATSON, J. D.; TOOZE, J., y KURTZ, D. T. (1986): *ADN recombinante. Introducción a la ingeniería genética*, Labor (versión original: 1983, Sci. Amer.).
- WILLADSEN, S. M. (1986): *Nature*, 320: 63-65.
- WINNACKER, E. L. (1987): «From genes to clones. Introduction to gene technology», *VCH*.
- WOMACK, J. E. (1987): «Genetic engineering in agriculture: animal genetics and development», *Trends Genet.*, 3: 65-68.
- YANCHINSKI, St. (1986): *Hacer trabajar a los genes. La nueva era industrial de la biotecnología*, Planeta (original: 1985, Viking Edit.).
- ZIMMERMAN, B. K. (1984): *Biofuture. Confronting the genetic era*, Plenum Press.

