

L'ENGINYERIA GENÈTICA I EL TRACTAMENT DE LA MALALTIA

RAFAEL SENTANDREU i ENRIC HERRERO

Departament de Microbiologia
Facultat de Farmàcia
Universitat de València

El desenvolupament de les ciències biomèdiques durant els darrers cinquanta anys ha estat espectacular. La Biologia Molecular ha permès a la Patologia d'esbrinar l'origen de malalties fins ara ignorat i cal esperar el desenvolupament de noves tècniques terapèutiques utilitzades per al seu venciment. Dins aquest context, no sols s'han trobat noves drogues d'origen vegetal i de síntesi química sinó que també s'han descobert substàncies d'origen animal amb una activitat farmacològica extraordinària.

Existeixen, tanmateix, processos en els quals els metabòlits participants es troben en concentracions tan elementals que no els hi podem quantificar i que, en el cas d'irregularitats metabòliques, no són fàcils de determinar. A més, en els casos en què han pogut ésser avaluats, la teràpia de substitució no ha pogut ésser emprada perquè estem mancats de tècniques de preparació adequades.

Freqüentment, l'obtenció d'aquests metabòlits es realitza a partir dels éssers vius, però l'eficàcia és tan baixa que llur utilització sembla impossible. Recentment, els descobriments de la Biologia han permès l'obtenció d'algun d'ells a partir de microorganismes mitjançant tècniques de fermentació. La pregunta és òbvia: ¿com s'ha aconseguit que alguns microorganismes siguin capaços de produir-ne substàncies d'origen animal o vegetal? Això és perquè els descobriments més recents ens han permès no sols de conèixer els mecanismes d'intercanvi de material genètic entre cèl·lules sinó que, a més, ens han facilitat les eines que permeten d'imitar aquests processos al tub d'assaig. En altres paraules, l'home pot modificar la composició genètica de les cèl·lules transferint artificialment DNA d'unes a d'altres fins i tot quan procedeixen de distint nivell biològic.

Així, doncs, als processos d'intercanvi de material genètic que es produeixen a la naturalesa s'hi han d'afegir aquells que es realitzen al laboratori i que permeten de modificar la dotació genètica de les cèl·lules. Aquestes, en condicions adequades, hi són capaces d'expressar la informació adquirida artificialment i d'expressar-la com la seva pròpia.

Les tècniques emprades en aquests processos i les perspectives que ofereix la seva utilització en l'obtenció de substàncies d'interès farmacològic són el motiu de les línies següents.

Mecanismes moleculars implicats als processos d'Enginyeria Genètica

Fa aproximadament uns quaranta anys, es realitzaren els descobriments clau que han portat al coneixement dels mecanismes que permeten el pas de material genètic d'uns microorganismes cap a uns altres. Un d'ells es detectà en observar que part del DNA d'alguns bacteris s'allibera al medi amb la seva mort i que altres el poden incorporar i expressar com a propi. Aquest procés així com la tècnica de laboratori que d'ell es deriva rep el nom de transformació. Actualment, en Biotecnologia, aquesta tècnica s'utilitza, sobretot, en la modificació genètica de les cèl·lules eucariòtiques.

Posteriorment, hom descobrí d'altres dos mecanismes, mitjançant els quals alguns gens poden mobilitzar-se i passar d'unes cèl·lules cap a unes altres. En uns casos s'utilitzen virus com a agents mobilitzadors del DNA. Els virus, durant el procés d'encapsidació del seu material genètic, poden incorporar, a més del seu DNA, petits trossos del material genètic de la cèl·lula hostessa. Aquestes partícules viriques defectives, quan infecten el nou hoste, li injecten tant el seu DNA com el de l'anterior. La transferència de gens mitjançant un virus es coneix sota el nom de transducció i, gràcies a ella, les cèl·lules receptores poden presentar característiques genètiques que abans no posseïen.

Alguns bacteris poden transferir, també, part del seu DNA per contacte directe amb d'altres cèl·lules, procés que rep el nom de conjugació. L'habilitat d'una cèl·lula per a transferir DNA directament es troba regulada per un conjunt de gens normalment no integrats en el cromosoma bacterià i que reben el nom de «plasmidis».

Podem fer-ne un resum dient que tant virus com plasmidis són els dos vehicles que la naturalesa ha desenvolupat per a permetre l'intercanvi de material genètic entre les cèl·lules bacterianes. L'home, a través de l'experimentació, ha desenvolupat tècniques que utilitzant eixos dos vehicles permeten de transferir DNA de qualsevol nivell biològic. Aquestes tècniques constitueixen una eina potentíssima, capaç de transformar les cèl·lules receptores d'eixe DNA en fàbriques vivents de substàncies prèviament no sintetitzades per elles, però que són codificades pel nou DNA adquirit.

Podem definir l'Enginyeria Genètica com el conjunt de tècniques que permeten modificar les dotacions genètiques de les cèl·lules i la Biotecnologia com la seva utilització pràctica.

Encara que les implicacions socials de l'Enginyeria Genètica no les podem valorar en tota la seva extensió, el que si podem detectar és l'impacte que ja han produït, tant a nivell científic com tècnic. Actualment, l'Enginyeria Genètica s'utilitza en la indústria farmacèutica, en la química, en la dels aliments, en la solució dels problemes agrícoles, etc. En aquest treball ens referirem, exclusivament, a les implicacions de l'Enginyeria Genètica en la indústria farmacèutica i, específicament, en el desenvolupament de noves substàncies amb interès farmacològic.

Implicacions de l'Enginyeria Genètica en l'obtenció de substàncies d'interès farmacològic

Les substàncies d'interès farmacològic l'obtenció de les quals es veurà afectada per la nova tecnologia durant els pròxims deu a vint anys, seran les hormones, els antibiòtics, les vacunes, els enzims i anticossos i d'altres drogues d'origen vegetal.

A més llarg termini, esperem que l'Enginyeria Genètica desenvolupi les eines necessàries per a la utilització de gens aïllats al tub d'assaig en substitució de gens humans defectuosos.

Hormones

De totes les substàncies que actualment tenen possibilitats d'obtenció mitjançant l'Enginyeria Genètica, aquelles l'estudi de les quals es troba en grau més avançat, són, sense dubte, les hormones. D'aquestes, algunes ja són d'ús clínic quotidià o, si no ho són, coneixem aspectes diversos de llur activitat metabòlica; tanmateix, d'altres estem mancats pràcticament d'informació pel motiu de llur escassetat. De les 48 hormones que coneixem, només 10 són d'ús mèdic, i com que en alguns casos la seva obtenció és difícil, la Biotecnologia ha obert la possibilitat d'obtenir-les en quantitats adequades i costos relativament baixos.

L'obtenció d'hormones i polipeptids es realitza actualment mitjançant alguna de les tècniques següents: a) per extracció a partir d'òrgans animals o humans, del sèrum o de l'orina; b) per síntesi química; c) a partir de cèl·lules aïllades o cultius; d) per fermentació, després d'introduir els gens adequats en microorganismes.

La tècnica a utilitzar depèn del preu final del producte i actualment s'empra la síntesi química quan la longitud de la cadena d'aminoàcids, en el cas de les hormones polipeptídiques, és de fins 35 aminoàcids. És el cas, per exemple, de la «calcitonina», la cadena de la qual és de 32 aminoàcids. Tanmateix, aquesta capacitat de síntesi es redueix considerablement si en l'estructura primària de l'hormona es troben residus glucídics a més d'aminoàcids.

Encara que la síntesi d'hormones de baix pes molecular es pot realitzar químicament, l'empresa americana Genetech demostrà, fa uns anys, que és possible d'obtenir «somatostatina», una hormona que es troba al cervell, mitjançant DNA recombinant, però la utilitat d'aquest descobriment és actualment encara més científica que pràctica.

No existeixen alternatives, tanmateix, en el cas d'hormones de pes molecular elevat l'obtenció de les quals es realitza per extracció de teixits humans, d'animals o de cèl·lules en cultiu. Actualment, algunes, com la insulina o l'hormona del creixement, poden obtenir-se per fermentació gràcies a les tècniques dissenyades per l'Enginyeria Genètica.

La limitació en la utilització clínica de les hormones obtingudes de microorganismes modificats genèticament no és un problema tant tecnològic com institucional.

La seva utilització deu ésser aprovada per les autoritats sanitàries i aquestes, així ho pensem, deuen d'exigir, entre d'altres, els següents requeriments: a) evidències que la seqüència d'aminoàcids de la substància obtinguda és idèntica a la de l'hormona humana; b) la substància no ha de contenir endotoxines procedents del microorganisme productor ja que poden produir febre o efectes secundaris, i, c) absència d'altres substàncies amb estructura similar i que poden induir reaccions immunològiques.

A més d'aquests requeriments institucionals, n'existeixen d'altres de naturalesa econòmica, com són que les substàncies obtingudes deuen resultar més econòmiques que quan ho són per altres procediments.

Hi ha, tanmateix, aspectes que poden aconsellar la utilització clínica de les hormones obtingudes per DNA recombinant en presentar avantatges significatius sobre les de procedència animal. Així, l'ús de les insulines procedents d'animals és gene-

ralitzat, però aquestes insulines es distingeixen de la humana en 1 (porquina) o 3 (ovina) aminoàcids. L'ús prolongat d'aquestes produeix efectes secundaris significatius com retinopaties i nefropaties i, fins i tot, en ocasions, reaccions immunològiques. Avui desconeixem si la utilització de la insulina humana obtinguda a partir de microorganismes evitaria els efectes indesitjables detectats per l'ús de l'obtinguda d'animals, però si ocorre així, l'avantatge de l'ús d'aquella, la produïda per microorganismes, seria evident.

Vists alguns dels problemes que planteja l'ús clínic d'hormones obtingudes per Enginyeria Genètica, anem a ressenyar breument les perspectives que existeixen en iniciar la preparació d'altres substàncies amb propietats terapèutiques significatives.

A més de la insulina, l'obtenció de la qual mitjançant DNA recombinant es troba molt avançada, podem citar l'hormona del creixement. Aquesta és responsable d'una sèrie de processos metabòlics, essent el més conegut l'endarreriment que es produeix en el creixement de l'home abans de la pubertat en la seva absència i els efectes beneficiosos que apareixen quan s'usen en teràpies de substitució. Entre d'altres àrees del metabolisme on aquesta hormona actua d'una manera beneficiosa, es troben la inhibició dels processos de descalcificació dels ossos, el facilitar el creixement intrauterí, la cicatrització de cremades profundes i els processos de reparació ossosa.

Aquesta hormona no sols ha estat obtinguda a partir de microorganismes sinó que la indústria americana ja ha sol·licitat permís de les autoritats sanitàries per iniciar estudis clínics.

Unes altres dues hormones en les quals l'aplicació de les tecnologies derivades del DNA recombinant farà possible la seva aplicació terapèutica a un termini relativament curt són l'hormona paratiroidea que evita les alteracions ossoses, i el factor de creixement dels nervis que facilita el desenvolupament de les cèl·lules d'aquest teixit i té interès en els casos de cirurgia de restauració de les cèl·lules nervioses, etc.

Proteïnes relacionades amb el sistema immunitari

Els camps que s'obren amb la nova tecnologia s'estenen, també, a d'altres substàncies d'interès farmacèutic i, d'una manera important, a aquelles relacionades amb el sistema immunitari. S'espera la preparació d'antigens capaços de produir immunitat davant distints agents etiològics i que no produïsquen la simptomatologia de la malaltia. Recentment, s'ha descrit l'obtenció d'antigens que poden actuar com «vacunes» contra l'agent causant de la malària, representant aquest descobriment un salt qualitatiu important en la lluita contra aquesta malaltia.

Tanmateix, la immunitat induïda per vacunes «vives» és molt més alta que la induïda per antigens aïllats, d'ací que s'intente la utilització de microorganismes no patògens modificats genèticament, capaços d'alliberar dosis continuades d'antigen en l'organisme humà. A més, d'aquesta manera, s'evitarien els efectes secundaris que s'hi poden produir amb la utilització de vacunes constituïdes per microorganismes patògens morts.

Un altre aspecte a destacar pel seu interès social i econòmic es refereix a l'obtenció de vacunes antiviriques. Tals són els casos del refredament comú, la poliomielitis, l'hepatitis, etc. En el primer cas, i degut a la facilitat de mutació que presenta el virus corresponent, seria possible crear bancs de gens que poguessen proporcionar antigens determinats segons les necessitats.

Entre les malalties viriques dels animals que hom espera controlar a curt termini, gràcies a l'Enginyeria Genètica, destaquen les de la glossopeda i la de la febre aftosa dels porcs, ambdues amb implicacions econòmiques importants.

Finalment, s'ha suggerit, també, la possibilitat d'obtenir antigens per a alguns tipus de càncers.

Interferons

Aquests són substàncies de naturalesa glicoproteica produïdes per distints tipus de cèl·lules, en resposta a una infecció vírica. Llur interès farmacològic rau en el fet que els interferons indueixen un estat de protecció antivírica en cèl·lules prèviament susceptibles.

Aquesta capacitat antivírica induïda pels interferons encara no ha pogut ésser explotada en clínica degut a les dificultats que presenta la seva preparació. Avui, aquesta es realitza a partir de cultius de leucòcits, fibroblasts o cèl·lules limfoblastoides, resultant en quantitats molt limitades i cares. Hom considera que les tècniques de DNA recombinant són la clau que ha de permetre la producció massiva d'interferons i, alguns, ja s'han obtingut a partir de microorganismes, i són actualment objecte d'estudi a nivell clínic.

Altres substàncies del sistema immunitari de gran interès clínic són els anticossos, substàncies amplament utilitzades actualment. S'obtenen a partir del sèrum sanguini de l'home o d'animals i, també, a partir de cultius cel·lulars. Avui és possible obtenir-los, amb un grau de puresa major que anteriorment, gràcies a tècniques de fusió de cèl·lules. A més, aquesta tècnica permet la seva obtenció amb capacitat monovalent (anticossos monoclonals), la utilització pràctica de la qual s'ha iniciat en el camp de la detecció d'hormones, proteïnes, drogues, agents microbians, etc., presents als líquids humorals.

Enzims

L'ús clínic de les proteïnes es troba poc desenvolupat per distints inconvenients. Un grup d'enzims actualment en ús és l'emprat en els casos d'hemofília. Els enzims se subministren, normalment, en forma de proenzims que es transformen en l'enzim actiu a l'organisme receptor. Aquestes proteïnes es preparen a partir de plasma sanguini i la seva producció és tan limitada que s'espera que siga insuficient durant els propers anys. La seva utilització es caracteritza per una incidència elevada d'hepatitis vírica i, més recentment, de la síndrome d'immunodeficiència adquirida, malalties procedents dels donants de sang. Per això, l'obtenció d'aquestes proteïnes antihe-mofiliques mitjançant DNA recombinant pot ésser la solució definitiva d'aquests problemes derivats del seu ús actual.

Una altra proteïna d'interès clínic a curt termini és la uroquinasa, que s'utilitza per a eliminar els coàguls sanguinis que es produeixen en els casos d'embòlies pulmonars, atacs cardíacs, etc., l'obtenció de la qual, a partir de microorganismes, també es troba molt avançada.

A més de les substàncies citades, n'existeixen d'altres que són objecte d'estudi per part dels científics i hom espera obtenir-les mitjançant l'Enginyeria Genètica. Entre aquestes es troben els antibiòtics, les drogues no proteiques d'origen animal o vegetal, etc.

Després del que hem dit fins ací, és obvi que l'impacte de la nova tecnologia genètica es pot resumir en dos punts: *a)* facilitarà la preparació d'una sèrie de productes farmacèutics, el valor terapèutic dels quals encara no és avui totalment conegut. Es podran obtenir hormones, interferons o anticossos, però l'impacte d'aquests últims pot ésser mil vegades major que el dels altres si llur efecte terapèutic es poguera estendre fins a reduir la mortalitat produïda pel càncer; *b)* actualment, les propietats biològiques de moltes hormones no són conegudes car no s'obtenen en concentracions i puresa adequades per al seu estudi. L'aplicació de les tècniques de DNA recombinant pot facilitar la preparació i permetre el seu estudi i utilització posterior. Eixe és el cas, per exemple, de les citoquines i les limfoquines, l'ús mèdic de les quals no és possible amb caràcter immediat, però s'obre el camp de la seva investigació. Avui és possible, de bell antuvi, el poder analitzar pràcticament qualsevol fenomen biològic d'interès a nivell cel·lular, mitjançant l'aplicació de les noves tècniques genètiques.

Perspectives

Finalment, i bé que a llarg termini, s'espera de poder utilitzar la teràpia de recanvi en el cas de gens alterats. Actualment, algunes malalties d'origen genètic com l'anèmia es tracten amb transfusió de cèl·lules roges, que no és més que un tipus de trasplantació. Més recentment, s'ha introduït una teràpia experimental diferent i que consisteix en el trasplantament de les cèl·lules de la medulla ossosa. En aquest cas allò que s'intenta és provocar la proliferació normal de les cèl·lules trasplantades i la síntesi, per part d'elles, d'hemoglobines normals. Avui coneixem, almenys, un cas en el qual aquest tipus de trasplantament ha resultat totalment satisfactori. A més, els resultats obtinguts ens porten a pensar quina va a ésser la nova etapa en el tractament de les hemoglobinopaties. Aquesta no pot ésser altra que el trasplantament dels gens capaços de codificar hemoglobina normal a les cèl·lules defectuoses de la medulla ossosa. En aquest context, la teràpia amb gens no representa sinó una etapa més en el tractament de les hemoglobinopaties com a resultat de l'augment dels nostres coneixements, a nivell molecular, d'aquesta malaltia.

El desenvolupament dels nostres coneixements ens permet de pensar que, aviat, serem capaços de manipular genèticament les cèl·lules germinals dels mamífers. En aquest sentit, ja s'han introduït gens específics en ous de rata fertilitzats quan el material genètic de l'espermatozoide es trobava com a pronucli. Aquesta tècnica ens permetrà d'estudiar com funcionen els mecanismes de regulació que controlen l'activitat dels gens i, amb els resultats obtinguts, d'imaginar que en un proper futur es podrà manipular la dotació genètica de l'home. Aquesta manipulació, a diferència de la teràpia somàtica, se separa radicalment dels usos terapèutics emprats fins ara. Avui es produeix la fertilització «in vitro» en la nostra espècie i és possible que, en un futur no molt llunyà, s'obtinguin éssers «clònics» com ja ha ocorregut en rates.

Aquesta nova etapa de la Biologia que ens permet de manipular genèticament els éssers vius s'ha desenvolupat pràcticament durant els darrers anys i, aparentment, ni la gent del carrer ni els científics no ens hem adonat plenament de l'impacte que tindrà en la nostra societat. És probable que, quant més coneguem sobre el DNA i la genètica de l'home, sorgeixin nous problemes. Tanmateix, els científics i els polítics deuen d'utilitzar els nous coneixements de manera que ens puguem conduir únicament cap al millorament de la nostra societat.