

# Introducción histórica a la industria del DNA

Miguel Hernández-Bronchud

---

## COMIENZOS DE LA GENETICA

Parece seguro que los elementos básicos del conocimiento sobre la herencia se remontan al nacimiento y desarrollo de la agricultura y ganadería hace aproximadamente diez mil años. El cultivo de plantas comestibles y la cría de animales domesticados deberían, pues, considerarse como los primeros grandes logros de la biotecnología y fueron, sin duda, imprescindibles para alcanzar del éxito económico que permitió el asentamiento y construcción de ciudades y, por tanto, el nacimiento de lo que conocemos como civilización. Pronto siguieron los conocimientos sobre la fermentación de los alimentos (por ejemplo, de la leche, la uva y la malta), la obtención de fibras vegetales para la producción de tejidos, la obtención de tintes a partir de sustancias vegetales o animales, la utilización de las primeras hierbas medicamentosas, y, por supuesto, los primeros contactos para intercambiar conocimientos y mercancías, o sea el comercio. Pero los conocimientos sobre las reglas agrícolas y ganaderas se veían frecuentemente mezclados con conceptos mágicos y religiosos. La Biblia, por ejemplo, nos recuerda: "No permitirás a tu res engendrar con una de otra clase y no sembrarás tu campo con semillas mezcladas".

Ni los filósofos de la Grecia clásica ni los genios del Renacimiento lograron profundizar en

las verdaderas reglas de la herencia. Entre los filósofos, Aristóteles, también conocido como "el peripatético" porque solía pasear cuando enseñaba, sembró bastante confusión con su interpretación un tanto "machista" de la herencia, que, en su opinión, derivaba exclusivamente del padre. El semen masculino determinaba la forma del niño y la madre se limitaba a proveer el material para la fabricación del niño. Sócrates, como en otras cosas, demostró ser mucho más profundo y, aun reconociendo la importancia de la herencia, ya que los hijos suelen ser parecidos a sus padres, también señaló que no todas las características suelen ser aparentemente heredables; por ejemplo, acostumbraba decir que los hijos de los grandes políticos de Atenas suelen ser vagos y bastante inútiles. Su honradez le llevó a la marginación social y eventualmente al suicidio. Hipócrates, considerado el fundador de la medicina occidental, es parcialmente responsable de la que más adelante (durante la Edad Media y el Renacimiento) se conocería como la teoría de la "preformación". Según esta teoría, el proceso de desarrollo de un individuo es un simple proceso de amplificación de un diminuto enano preformado u "homúnculo", presente en la sangre de la madre, o más frecuentemente, en el semen del padre. También predominaba la teoría de la generación espontánea: por ejemplo, las moscas derivaban directamente de la carne en putrefacción. Se tuvo que llegar al siglo XVII para que un italiano, Francesco Redi, de-

mostrara elegantemente que no se producen moscas de la carne, si ésta se conserva sigilosamente cerrada en una jarra y sin ningún contacto con moscas. O sea que la herencia de las moscas está en las mismas moscas, y no existe generación espontánea de moscas. El francés Louis Pasteur, padre de la microbiología moderna, demostraría mucho más tarde (en el siglo XIX) el mismo fenómeno, de manera más controlada y sofisticada.

Durante el mismo siglo XVII vivió uno de los fundadores de las ciencias biológicas modernas: Antonio van Leeuwenhoek. Después de dedicarse al comercio de paños y de libros en Amsterdam, se dedicó a la construcción de microscopios en su ciudad natal de Delft. Más por afición que por profesión, llegó a construir unos doscientos microscopios simples y fué el primero en demostrar la circulación de la sangre en la cola de los renacuajos, describiendo por vez primera la existencia de los capilares microscópicos, necesarios para completar las teorías de Harvey sobre la circulación de la sangre. Sin conocimientos del latín ni método científico alguno, no se dio a conocer hasta que otro gran estudioso holandés, Graaf, le presentó a la Royal Society de Londres. Aunque describió la existencia y comportamiento de los "espermatozoos", no pudo identificar los "huevos" femeninos ni en la mujer ni en otros mamíferos. El genial William Harvey, descubridor de la doble circulación de la sangre, intuyó correctamente que todos los animales provienen de "huevos" pero fracasó en sus múltiples intentos de identificar algún huevo en decenas de disecciones de hembras de animales, incluyendo a varias ciervas del rey de Inglaterra. La búsqueda del huevo femenino duró hasta principios del siglo diecinueve y fue el médico y embriólogo alemán Oscar Hertwig quien describió la fertilización de un huevo de mamífero por un espermatozoo. Para entonces ya se sabía que las plantas también tienen sexo y que el polen corresponde al esperma masculino y el estigma hace la función del ovario femenino y allí se produce la penetración del polen y la fertilización. Claro que para complicar las cosas, muchas flores tenían tanto órganos sexuales femeninos como masculinos y eran capaces de autofertilizarse.

Así llegaremos a Juan Gregorio Mendel, el padre de la genética y un genio de importancia no menor que Newton o Dalton. Botánico y padre agustino alemán vivió de 1822 a 1884. En 1843 ingresó al convento de Agustinos de Brunn en cuyo jardín realizó sus fundamentales experimentos sobre el guisante de olor, o *Pisum sativum*. O sea, que el nacimiento de la genética tuvo lugar en un monasterio, siendo probablemente la contribución más importante de la Iglesia a la ciencia. La planta elegida por Mendel se autofecunda obligatoriamente, y su polen, en condiciones normales, no puede alcanzar el estigma de otra flor. Pero, abriendo la flor inmadura, retirando la antera que proporcionaría el polen y cubriendo posteriormente el estigma con polen de otra planta, se produce una fecundación cruzada experimental absolutamente controlada. Utilizando varias estirpes de *P. sativum*, que diferían en el color de las semillas, su morfología, el tamaño del tallo, etc., Mendel los estudió por la hibridación, concluyendo que la progenie de varios cruzamientos, respecto a tales caracteres, no se comportaba de un modo fortuito; sino de manera que dichos fenómenos podían reducirse a una ley natural. Por ejemplo, hay guisantes olorosos altos y enanos, y en ellos tenemos plantas que muestran sus caracteres apareados y opuestos, fácilmente reconocibles.

Las formas altas y las enanas se cruzan entre sí; sus semillas se reúnen y luego se siembran, y las plantas resultantes pertenecen todas a la variedad alta, que, aparentemente, ha "absorbido" a la enana. Nunca aparecen plantas de tamaño intermedio, como quizás se hubiese esperado intuitivamente. Pero si esta generación de semillas se siembra el año siguiente y las flores de las plantas resultantes se autofecundan, cuando se siembran sus semillas y éstas se convierten a su vez en plantas, se ve que están mezcladas en proporciones definidas y que reaparecen otra vez, milagrosamente, las formas enanas, de manera que, por término medio, hay tres formas altas por cada forma enana. O sea que la información que generaba a la forma enana no había desaparecido en la segunda generación, sino que permanecía en ella potencialmente. El carácter que aparece sólo en el primer cruzamiento recibe el nombre de "dominante" (en el ejemplo lo dominan-

te es la altura) y al carácter latente se le conoce como "recesivo" (en el ejemplo es el enanismo). Lo mismo ocurría entre semillas lisas, las más frecuentes, y semillas rugosas. Anotando escrupulosamente, a lo largo de varios años, los resultados de tales experimentos, el padre agustino llegó a una de las más brillantes conclusiones sobre las leyes de la naturaleza de la historia: los caracteres hereditarios son llevados y transmitidos a la progenie como "unidades independientes". Cada guisante debe tener un par homólogo de tales unidades, de las cuales ha recibido una del polen y otra del óvulo ya que la unión del polen y del óvulo dio lugar a la semilla de la cual surgió el guisante.

Posteriormente, Mendel realizó cruzamientos dihíbridos, o sea entre dos razas de guisantes que diferían entre sí por dos caracteres alternativos. Por ejemplo, las semillas de una raza eran amarillas y lisas y las de la otra eran verdes y rugosas. Las semillas de la primera generación surgidas de este cruzamiento eran todas amarillas y lisas, al ser ambos caracteres dominantes frente a las alternativas verde y rugoso. Pero al autofecundarse las flores híbridas de esta primera generación, aparecieron entre los 556 guisantes de la segunda generación filial, no sólo los dos tipos paternos, sino también dos nuevos tipos recombinantes: 315 amarillos lisos, 101 amarillos rugosos, 108 verdes lisos y 32 verdes rugosos. Mendel interpretó que los dos conjuntos de unidades hereditarias (verde/amarillo y liso/rugoso) no se transmiten a la segunda generación filial necesariamente juntos, es decir se produce una "segregación" al azar de las unidades paternas.

Sin embargo, cuando este padre agustiniano presentó sus brillantes observaciones a la Sociedad de Ciencias Naturales de Brunn en 1865, se consideraron experimentos aburridos, sus libros empezaron a acumular polvo en varias bibliotecas y las implicaciones de sus resultados pasaron inadvertidas. Charles Darwin, contemporáneo de Mendel, que había alcanzado la fama con su teoría de la evolución, nunca conoció el descubrimiento de las unidades hereditarias sobre las cuales opera la "selección natural" por él propuesta. Incluso Darwin se equivocó al apoyar teorías preformativas no muy diferentes de las de Hipócrates. Los trabajos de

Mendel permanecieron olvidados por la comunidad científica durante tres décadas.

#### PROTEINAS RECOMBINANTES

En realidad, la genética molecular empezó su vertiginoso desarrollo con el descubrimiento en 1953 de la estructura tridimensional del DNA por Watson y Crick. Desde entonces, o sea en los últimos 40 años, nuestra comprensión de qué son y cómo funcionan los genes ha avanzado tanto que ya está en marcha un ambicioso programa (el famoso Proyecto Genoma) para secuenciar todo nuestro DNA y lograr un mapa genético completo de nuestra herencia.

Hasta el momento, las nuevas técnicas del DNA han permitido una mejor comprensión de varias enfermedades hereditarias y del cáncer, posibilitando nuevos métodos diagnósticos y pronósticos. Desde el punto de vista terapéutico, han permitido la síntesis en el laboratorio de proteínas humanas recombinantes que pueden ser utilizadas en la clínica como fármacos.

La identificación y purificación de la molécula de insulina es uno de los episodios más bonitos de las ciencias biomédicas. El éxito llegó cuando un médico canadiense de treinta años, Frederick Grant Banting, con la ayuda de otro médico de veintidós años, Charles Herbert Best; decidieron aislar la insulina de un perro atando quirúrgicamente el conducto pancreático de un animal vivo, esperando siete semanas antes de matarlo e intentar la extracción de la hormona de su páncreas. Previamente, se había intentado extraer la hormona directamente de un páncreas machacado u homogenizado; pero esta glándula contiene una alta concentración de enzimas proteolíticas que degradan la insulina durante el mismo procedimiento de extracción. Al atar el conducto pancreático, se induce la atrofia de las células pancreáticas que producen las enzimas degradadoras, pero no de los islotes de Langerhans que son las fábricas de insulina de nuestro cuerpo. La suerte también les acompañó, y la insulina pudo ser purificada a la perfección en su forma de cristal. Pronto fueron capaces de tratar a jóvenes pacientes con diabetes, previamente condenados a morir en coma diabético. Estos grandes éxitos les llevaron al premio

Nobel de Medicina en 1923. Desde entonces hasta mediados de los años 80, millones de personas en el mundo controlaron (ya que no curaron) su diabetes con insulina derivada y extraída de animales, y sobre todo del cerdo (creo recordar que fue Winston Churchill quien dijo, en uno de sus típicos arrebatos, que "el cerdo es el animal más parecido al hombre"). Pero es la aprobación para uso clínico de una molécula de insulina humana recombinante, producida por bacterias *E. coli* y patentada por la empresa norteamericana Eli Lilly, la que permite a millones de pacientes inyectarse a diario una molécula de insulina con exactamente la misma secuencia de aminoácidos que la nuestra.

No ocurre lo mismo con la hormona del crecimiento, que en el hombre es una molécula sustancialmente distinta a la del resto de los animales, exceptuando los primates. Niños con alguna forma de enanismo hereditario, se han inyectado hasta hace muy poco con hormona del crecimiento extraída de miles de hipófisis obtenidas a partir de cadáveres humanos. Pero ya pueden utilizar la hormona del crecimiento humano recombinante, evitando los posibles riesgos de infección por virus provenientes de cerebros humanos.

La insulina y la hormona del crecimiento constituyen dos éxitos clínicos y científicos de las nuevas industrias biotecnológicas, pero la lista se alarga constantemente.

Dos grandes grupos de moléculas recombinantes que están encontrando aplicación clínica son los factores de la coagulación de la sangre (y, sobre todo, sus reguladores); y los factores de crecimiento y las citoquinas (incluyendo a los inmunorreguladores como los interferones y las interleuquinas).

El grupo de más de 30 proteínas y enzimas que constituyen, conjuntamente con las plaquetas, las piezas esenciales de la coagulación de la sangre, necesitan de un riguroso control para que la sangre no se coagule de forma innecesaria, ni sea demasiado difícil de coagular. Todos hemos oído hablar de coágulos que producen embolias en el cerebro o en los pulmones, o que producen infartos de miocardio al bloquear una arteria coronaria; pero no todos somos conscientes de que si el

sistema no estuviera muy bien regulado, se nos podría coagular toda la sangre en cuestión de pocos minutos; o, por el contrario, podríamos morir por una hemorragia fulminante sin previo aviso. Fueron Ratnoff y Macfarlane quienes postularon, en 1964, que el sistema funciona como una cascada; de manera que cada componente o enzima, de esta cascada, libera de forma secuencial el factor activo sucesivo por activación (generalmente proteolítica) de un precursor inerte. Normalmente, los coágulos, una vez formados, son degradados por la acción de la enzima plasmina. Esta enzima está presente en la sangre en una forma inactiva, llamada plasminógeno, que es activado por un grupo de proteasas (o serin-proteasas) conocidas como activadores del plasminógeno. Una de éstas es la uroquinasa así llamada porque puede obtenerse a partir de la orina. La otra es el activador tisular del plasminógeno (también conocido por el acrónimo inglés tPA). El tPA, normalmente producido por varios tipos de células, se une a la fibrina y es selectivo para el plasminógeno presente en los coágulos. Así que sólo se activa la plasmina donde, en principio, es necesaria. Un tPA producido por técnicas recombinantes, y desarrollado por la compañía Genentech en los Estados Unidos y por los laboratorios Wellcome en el Reino Unido y parte de Europa, está siendo utilizado clínicamente en muchos países; por ejemplo, para el tratamiento urgente del infarto del miocardio. El medicamento no parece ser efectivo si se pospone su administración más allá de cuatro a seis horas después del comienzo de los síntomas de infarto, probablemente porque para entonces ya se ha producido alguna lesión irreversible en el músculo cardíaco (o miocardio) privado de oxígeno por la presencia del coágulo en la arteria coronaria. Existe, con estos medicamentos, un cierto riesgo de hemorragia en otros lugares (por ejemplo, en el cerebro) pero cada vez hay más experiencia sobre su utilización clínica en varias situaciones. El tPA fisiológico es una glicoproteína glicosilada a partir de un aminoácido asparagina. Un tPA recombinante, que tiene una glutamina en lugar de esta asparagina en el lugar 120 de la cadena peptídica, y por tanto no está

glicosilado, conserva la misma actividad trombolítica pero tiene una vida media circulante más larga, al no ser degradado por el hígado tan rápidamente (cinco a diez minutos) como el tPA normal.

No se ha tenido, hasta ahora, éxito en el desarrollo de un factor VIII recombinante que pueda ser utilizado clínicamente por los pacientes hemofílicos. Este relativo, y probablemente temporal, fracaso es en parte debido al tamaño y la complejidad molecular de este importante factor de la coagulación, y en parte a la heterogeneidad genética de esta enfermedad.

La proliferación y diferenciación celulares en el organismo vivo están reguladas, por lo menos parcialmente, por un complicado grupo de péptidos y glicoproteínas llamados factores de crecimiento. Estos factores están presentes en pequeñísimas cantidades en el suero o tejidos, en concentraciones del orden de picomolar o millonésimas de miligramo por litro de suero, y pueden actuar sobre receptores específicos de membrana de forma endocrina (como hormonas convencionales), paracrina (o sea de forma localizada y no circulante) y autocrina (o sea sobre las mismas células que los producen). Un importante descubrimiento a comienzos de la década de los ochenta, fue el hallazgo de que ciertos oncogenes codifican (o sea producen) factores de crecimiento (o sus receptores) alterados, permitiendo, en ciertos casos, una estimulación autocrina de la célula cancerosa. De todos modos, estos mecanismos autocrinos parecen ser la excepción, más que la regla, de la oncogénesis, ya que sólo se han detectado en casos muy puntuales, y se supone que en la mayoría de los casos otros mecanismos intracelulares menos conocidos son los que determinan el fenotipo neoplásico.

En contraste con las hormonas convencionales, los factores de crecimiento no son producidos por glándulas especializadas (como el tiroides o la hipófisis) si no por varios tejidos del cuerpo. Permiten la supervivencia, diferenciación y proliferación de células en cultivo y, en pacientes, se están revelando como potentes medicamentos capaces de favorecer la regeneración celular en situaciones tan disímiles como la anemia de los

pacientes con insuficiencia renal crónica (eritropoyetina), o la recuperación de los leucocitos tras quimioterapia o trasplante de médula ósea (factores estimuladores de colonias hemopoyéticas o CSF). Además, varios de estos factores (citoquinas, interleuquinas) son producidos por células inflamatorias pertenecientes al sistema inmunológico del organismo, modificando los mecanismos de defensa (modificadores de la respuesta biológica) e, incluso, favoreciendo la generación de linfocitos, y células afines, capaces de atacar células cancerosas (inmunoterapia).

Los interferones también modifican las respuestas inmunológicas y han demostrado una actividad terapéutica importante en cánceres raros como la tricoleucemia (o leucemia de células peludas), o en la más frecuente leucemia mieloide crónica. Al tener también una importante actividad antiviral, su utilización clínica ya ha sido aprobada para ciertas hepatitis virales y procesos verrugosos. Muchos de estos modificadores de la respuesta biológica comparten una serie de efectos clínicos adversos, como son la fiebre y el típico malestar asociado con un síndrome gripal, que es bien conocido por todos y está probablemente mediado por este tipo de moléculas, producidas por nuestro cuerpo en respuesta a una infección viral.

Parece verosímil que sólo se hayan identificado hasta el momento los factores de crecimiento más fáciles de purificar y de clonar por técnicas moleculares. Por tanto, cabe esperar que la mayoría de estos reguladores celulares estén por descubrir. En consecuencia es, por ahora, imposible pintar un cuadro general sobre las implicaciones fisiológicas, patológicas y terapéuticas de estas sustancias. De todas formas, ya empieza a ser posible esbozar por lo menos dos de los elementos más importantes de esta red (o network) de comunicación intercelular: el conjunto de citoquinas y linfoquinas que juegan un papel fundamental en las reacciones de inmunomodulación e inflamación y la compleja interrelación entre estroma y parénquima, ilustrada, por ejemplo, por lo que ya conocemos sobre la regulación del sistema hemopoyético, o sobre los mecanismos de fibrosis.

El hecho de que estas sustancias sean indispensables para la supervivencia de las células diana *in vitro* ha sugerido que puedan tener una actividad inhibidora sobre el complejo proceso de muerte celular programada que se conoce como apoptosis y que implica cambios fundamentales en la estructura de la cromatina, la síntesis citoplasmática de proteínas y el mantenimiento de la integridad de la membrana plasmática.

Los linfocitos T son una de las fuentes más importantes, si no la más, de glicoproteínas inmunomoduladoras. Participan en la activación o inhibición de la función de otros linfocitos (T y B), macrófagos, fibroblastos, células endoteliales y células hemopoyéticas. La actividad inmunomoduladora de los linfocitos T se puede basar en contactos directos célula-célula o en la producción de glicoproteínas que suelen actuar a nivel local o paracrino. Los mediadores moleculares producidos por los linfocitos T incluyen a las interleuquinas IL-1 alfa, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, los interferones alfa, beta y gamma, el factor de necrosis tumoral (TNF), la linfoxina, el factor estimulador de colonias de granulocitos y de macrófagos (GM-CSF) y el factor de crecimiento transformador beta (TGF-beta).

Todas son sustancias de una gran actividad biológica, cuyas concentraciones tisulares tienen que estar bien reguladas para evitar efectos tóxicos que pueden llegar a ser letales. La producción de estas linfoquinas por las células T suele ser transitoria, y no durar más de 24 a 48 horas después de la activación de las células. La interleuquina-2 (IL-2), que estimula la proliferación de los linfocitos T y de células citotóxicas afines (como las células NK o los ya mencionados TIL), fue la primera de las interleuquinas aprobadas para uso clínico, a finales de la década de los ochenta, en pacientes con melanoma maligno o cáncer renal, para quienes no existían tratamientos convencionales mínimamente eficaces. A pesar de conseguir respuestas terapéuticas en un 15 a 30% de pacientes, la IL-2 es una sustancia tóxica, de difícil manejo, que puede producir fiebre, edemas, insuficiencia renal, toxicidad he-

pática, fenómenos tromboembólicos y, a dosis altas, un síndrome parecido al shock séptico o hipovolémico.

La estimulación de linfocitos T y B por parte de determinantes antigénicos protéicos o por parte de virus y bacterias atenuados (o sea, modificados, de manera que pierden su potencial patogénico) pueden, en algunas circunstancias, generar respuestas inmunes permanentes, y conseguir lo que se conoce como una vacunación eficaz. En 1977, la Organización Mundial de la Salud (OMS), después de una exitosa y formidable campaña internacional de vacunación, detectó en Somalia el último caso de viruela, enfermedad producida por un virus que había causado verdaderos estragos en la historia de la humanidad. Otras enfermedades, como la difteria, la poliomielitis y el tétano, ya no son lo temibles que eran en la mayor parte de los países industrializados gracias a un extenso programa de vacunación en niños y adultos. No debe, por tanto, sorprender que éstos y otros éxitos hayan estimulado la obtención de nuevas vacunas por métodos recombinantes. En 1982, Valenzuela y sus colaboradores publicaban en la revista *Nature* la obtención de una vacuna recombinante para la hepatitis B, que ya es comercialmente asequible y puede permitir una notable disminución en la incidencia de la hepatitis crónica, o incluso de la cirrosis y el cáncer de hígado, bastante frecuente en ciertas zonas de Africa y de Asia suroriental. Desgraciadamente, no todos los intentos de generar vacunas recombinantes han tenido tanto éxito. La verdad, es que no comprendemos del todo bien por qué algunas vacunas son eficaces, y otras no lo son. El proceso de presentación antigénica es más complicado de lo que muchos pensaban hace tan sólo unos años, dependiendo a veces de la digestión de un antígeno por estructuras intracelulares conocidas como proteosomas. La generación de linfocitos con memoria (y, por tanto, capaces de reconocer un determinante antigénico o virus muchos años después de la vacunación) parece depender también de genes concretos, como el llamado *bcl-2*.

Como el virus de la viruela parece óptimo para la generación de una respuesta inmunológica per-

manente, se han producido en el laboratorio virus de la viruela recombinantes, que actúan como vectores para la expresión de antígenos de otros virus (como los virus de la rabia, del herpes, o del SIDA) para los que todavía carecemos de vacunas útiles. Los más optimistas incluso esperan que en un futuro nuevas vacunas reduzcan el riesgo de varios cánceres asociados a la infección por determinados virus (como los papilomavirus y el cáncer de cérvix uterino):

Otro tipo de comunicación intercelular es la que, por ejemplo, actúa entre las células epiteliales y las células del tejido conectivo, normalmente separadas por una membrana basal, de naturaleza proteica y violada sólo por las células cancerosas. Desde comienzos de este siglo y sobre todo a raíz de los primeros estudios detallados sobre la embriogénesis y morfogénesis, se ha sospechado que estroma y parénquima mantienen una relación íntima, que determina (por lo menos en parte) la morfología y diferenciación de las células parenquimatosas, y su actividad proliferativa y metabólica. Estroma es el tejido fibroso conectivo de sostén de un órgano, o sea el que proporciona el armazón a las verdaderas células nobles (o parénquima) del mismo. El parénquima está, por tanto, constituido por el conjunto de células propias de un órgano con funciones específicas. También se especuló sobre si la muerte de células parenquimatosas, por ejemplo de la piel (tras una herida) o del hígado (tras un percance vírico o tóxico) de alguna manera desencadenaba un proceso de inflamación local y eventualmente de fibrosis (o cirrosis).

Hoy sabemos algo más, aunque todavía poco, sobre los mecanismos moleculares que regulan estos procesos. El tejido (en su mayor parte líquido) que mejor se comprende desde el punto de vista de su cinética celular y molecular es el hemopoyético, que es como se conoce a la sangre en términos científicos. Esta mejor comprensión del tejido hemopoyético se debe a razones fundamentalmente técnicas: la fácil obtención de células maduras de la sangre periférica y de células progenitoras y pluripotentes de la médula ósea (y también de sangre periférica, en algunas circuns-

tancias); la producción de proteínas altamente diferenciadas por parte de las células maduras de la sangre; buenos marcadores morfológicos; y el desarrollo durante las últimas tres décadas de ensayos funcionales para medir el número y la calidad de las células progenitoras; y también la actividad de las células maduras. A estas ventajas, ahora tenemos que añadir el descubrimiento y producción por técnicas moleculares de un número de importantes glicoproteínas que regulan la proliferación, diferenciación y activación funcional de la mayoría de las células de la sangre.

Como ya hemos comentado, cada día unos  $2 \times 10^{11}$  eritrocitos,  $1 \times 10^{11}$  granulocitos y  $4 \times 10^{11}$  plaquetas dejan la médula ósea para entrar en la circulación de la sangre. En el adulto, más de 120 millones de células mieloides dejan la médula ósea cada minuto, y este número puede aumentar todavía más en presencia de infección o inflamación.

La sospecha de la existencia de estimuladores hormonales específicos de la producción de elementos celulares de la sangre se remonta a clásicos experimentos fisiológicos en animales anémicos experimentales a principios de siglo y a la eventual purificación y clonación molecular de la eritropoyetina en los años ochenta. Otras hormonas, los colonias o CSF, se aislaron a partir de cultivos de médula ósea *in vitro*, donde el tenaz y perspicaz científico australiano Donald Metcalf demostró por vez primera que era posible producir macrófagos y neutrófilos maduros *in vitro* a partir de médula ósea y medio de cultivo condicionado por células tumorales. Algunos de estos factores, por ejemplo la interleuquina-3 y en cierta medida el GM-CSF, actúan en forma predominantemente local en los tejidos (o paracrina), pero otros, por ejemplo el G-CSF, parecen actuar también en forma endocrina, estimulando la maduración, proliferación y liberación de granulocitos neutrófilos. Así, es posible detectar niveles circulantes de G-CSF en la mayoría de los sujetos normales, y los niveles aumentan radicalmente durante el proceso infeccioso, volviendo a niveles basales tras la resolución del proceso, tanto en pacientes neutropénicos como en no neutropénicos.

Al igual que el G-CSF, también aumentan durante la infección los niveles séricos de M-CSF y IL-6, pero no los de GM-CSF. Curiosamente, los niveles séricos de G-CSF suelen estar más elevados en pacientes con una bacteremia Gram negativa que en pacientes con una infección Gram positiva.

Los productos recombinantes de estas sustancias han sido estudiados *in vivo* y ya se están utilizando con éxito en situaciones de estrés de la médula ósea, como son los pacientes oncológicos tratados con citotóxicos quimioterapéuticos, para disminuir el período de neutropenia severa y facilitar la administración de quimioterapia de acuerdo con el protocolo o, incluso, de forma más intensiva. Los más utilizados hasta el momento, han sido el G-CSF y el GM-CSF. En 1987, trabajando con el profesor Michael Dexter en el Christie Hospital y el Laboratorio Paterson de la Universidad de Manchester, publiqué el primer trabajo sobre la utilización clínica de factor G-CSF recombinante humano, que había sido identificado en 1985 por Karl Welte en Nueva York y clonado molecularmente por Larry Souza, en la compañía californiana Amgen, en 1986. Simultáneamente, otros dos grupos (dirigidos por Janice Gabriolove del Memorial Sloan Kettering de Nueva York, y por George Morstyn del Ludwig Institute de Melbourne en Australia) realizaron estudios clínicos paralelos que confirmaron la muy buena tolerabilidad de este producto recombinante y su eficacia en pacientes oncológicos (con cáncer) tratados con quimioterapia.

Estos pacientes suelen desarrollar un déficit de glóbulos blancos (particularmente de granulocitos neutrófilos) a consecuencia de los efectos de la

quimioterapia, y pueden sufrir infecciones importantes (incluso letales), o retrasos en su terapia antitumoral a consecuencia de estos efectos. La utilización del G-CSF recombinante reduce en 50% el período de insuficiencia de este tipo de glóbulos blancos (o "neutropenia"), permitiendo administrar la quimioterapia convencional con menos riesgos para los pacientes, o, incluso, acelerar el tratamiento.

Tanto el G-CSF como el GM-CSF producen un aumento en el número de leucocitos circulantes, en el número de células progenitoras en sangre periférica (fenómeno, este último, que también se ve en pacientes tratados con interleuquina-2); y un aumento en la celularidad de la médula ósea, fundamentalmente como consecuencia de la amplificación en el compartimiento de maduración de la serie mieloide. El GM-CSF, probablemente como consecuencia de la activación de los macrófagos, suele tener más efectos secundarios que el G-CSF; fiebre, malestar, mialgias o, a altas dosis, fenómenos tromboembólicos. Estos factores no parecen desequilibrar de forma significativa el sistema (proliferación/diferenciación), y no conducen al agotamiento o reducción de las células madres pluripotentes, lo que se hubiese podido traducir en una pancitopenia. De hecho, también se utilizan con éxito en situaciones como algunas mielodisplasias, neutropenias congénitas, víricas o tóxicas, o, incluso algunos casos de aplasia medular.

#### BIBLIOGRAFIA

El texto de este artículo representa una forzosamente breve sinopsis de la siguiente publicación, que podrá ser consultada para ampliar conceptos y referencias bibliográficas: Hernández-Bronchud M. La Industria del DNA: Principios básicos y potencial futuro. Barcelona: Editorial MCR, Grupo Permanyer 1992.