

BIOLOGIA MOLECULAR Y MEDICINA A FINES DEL SIGLO XX

ALBERTO R. KORNBLIHTT

Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires

Resumen Este trabajo revisa conceptos básicos de la biología molecular moderna con la premisa de que su influencia en la medicina de nuestros días es tan grande que ya no puede ser un saber limitado a unos pocos expertos. Se analiza la estructura y organización de los genes humanos, su naturaleza partida en exones e intrones y el flujo de información genética desde el DNA a la proteína. Se describe el papel del control de la transcripción en la regulación de la expresión genética y la diferenciación celular, presentando ejemplos de experimentos que definen la importancia de los genes "maestros". Se describen los conceptos básicos de la ingeniería genética, la generación de animales transgénicos y *knock out* y las aplicaciones de la biología molecular al diagnóstico médico y a la determinación de identidad y lazos biológicos. Finalmente se discuten las posibilidades de la terapia génica y las realidades y fantasías de eventuales transgénesis o clonado por trasplante nuclear en humanos.

Abstract *Molecular biology and medicine at the end of the XXth century.* This paper reviews basic concepts of modern molecular biology with the premise that its influence in today's medicine is so important that its knowledge cannot remain limited to a few experts. I first analyze the overall structure and organization of human genes, their split nature and the flow of genetic information from DNA to protein. The role of transcriptional control in the regulation of gene expression and cell differentiation is described by introducing experimental examples that define the importance of "master" genes. Basic concepts of genetic engineering, the generation of transgenic and *knock out* animals and the uses of molecular biology in clinical diagnosis, paternity tests and forensic medicine are presented. Finally, I discuss the possibilities of gene therapy and the fantasies and realities of transgenesis and cloning by nuclear transplant in humans.

Key words: molecular biology, medicine, transgenic mice, *knock out* mice, clonation

El propósito de este trabajo es revisar conceptos fundamentales de la biología molecular moderna con la premisa de que su influencia en la medicina de nuestros días es tan grande que ya no puede ser un saber limitado a unos pocos expertos. La descripción de los avances, posibilidades presentes y futuras de la biología molecular no estará exenta de una visión personal sobre algunos aspectos éticos o sociales. Quizás valga la pena advertir al lector que el autor de este trabajo no es médico y que investiga en aspectos básicos de la biología molecular. Esta es una disciplina científica consolidada que intenta comprender los íntimos mecanismos del flujo de información genética, tanto en contextos fisiológicos como patológicos. Por lo tanto, nuestra primera afirmación será que la biología molecular no puede ser reducida a un simple manual de técnicas sofisticadas utilizables para resolver diversos problemas: hacer uso de dichas técnicas no es sinónimo de hacer

biología molecular, en tanto no se busque descifrar nuevos mecanismos del funcionamiento de las células.

En el principio, los genes

Si bien la biología molecular nació y creció saludablemente procarriótica, es decir, estudiando bacterias, en las dos últimas décadas ha sido posible sumergirse de lleno en el mundo molecular eucariótico, en particular de las células animales y entre ellas las humanas. Ya conocemos la secuencia completa del genoma de un animal, el gusano nematodo *Caenorhabditis elegans* y en pocos años conoceremos la secuencia completa del genoma humano. Todo el DNA de este último está formado por genes y secuencias intergénicas. Estas últimas representan la mayor parte del genoma, mientras que los genes son sólo un 10% del mismo. Se estima que el genoma humano tiene unos 80 000 genes. Los mismos codifican para distintos tipos de RNAs. Sólo los RNAs mensajeros (mRNAs) codifican a su vez para proteínas. Los RNAs ribosomales, de transferencia, nucleares pequeños, 7S y las ribozimas son productos de sus respectivos genes y, sin embargo, nunca son traducidos

por los ribosomas a proteínas, sino que cumplen funciones específicas en la célula directamente como moléculas de RNA. Los genes no se encuentran yuxtapuestos a lo largo de los cromosomas, sino más bien esparcidos y separados a grandes distancias por secuencias de DNA intergénicas. No existen hitos químicos o físicos que marquen el comienzo o el final de un gen. Tanto las regiones intergénicas como los genes son químicamente lo mismo: DNA. La diferencia entre lo que es gen y lo que no es gen radica en la información genética, y ésta está determinada por la secuencia u ordenamiento de las bases en el DNA. Es decir, una dada secuencia indicará que, allí donde ella esté y no en otra parte, comienza un gen.

Los genes que codifican para mRNAs y, por ende, para proteínas, son transcritos por una de las tres enzimas que fabrican RNA en la célula eucariota, la RNA polimerasa II. Cada uno de estos genes (Fig. 1) tiene regiones que estarán representadas en el mensajero maduro intercaladas por otras cuyas secuencias no estarán presentes en el mismo. Las primeras regiones se llaman exones, en tanto que las segundas son los intrones. La RNA polimerasa II fabrica un RNA precursor, llamado transcripto primario o pre-mRNA, que lleva información de exones e intrones. Dentro del núcleo y de manera simultánea y acoplada a la transcripción del

gen, el pre-mRNA sufre tres modificaciones químicas fundamentales. En su extremo proximal sufre la adición de un nucleótido metilado llamado "cap". En el extremo opuesto una enzima lo cliva del resto del RNA transcrito y le agrega una serie de nucleótidos de adenina que formarán la cola de poliA. Un complejo de ribonucleoproteico llamado "spliceosoma", ayudado por proteínas auxiliares específicas, cataliza la eliminación de los intrones y la unión de los exones entre sí, en el mismo orden correlativo en que se encontraban en el gen. Finalmente, el mRNA maduro, con "cap", sin intrones y con cola de poli-A abandona el núcleo y es traducido por los ribosomas que fabrican la cadena polipeptídica. Secuencias de bases específicas indican a la pol II dónde comenzar a transcribir, así como a las enzimas y factores proteicos encargados de la adición de "cap", del splicing y del clivaje y poliadenilación, en qué sitios del pre-mRNA realizar su trabajo. El conocimiento preciso del papel de estas señales secuenciales es importantísimo ya que mutaciones que afecten a las mismas pueden tener consecuencias negativas en la expresión del gen y ser causas de patologías. Como ejemplo, baste decir que cerca del 20% de las mutaciones que causan enfermedades hereditarias en el hombre son alteraciones de las secuencias que controlan el "splicing".

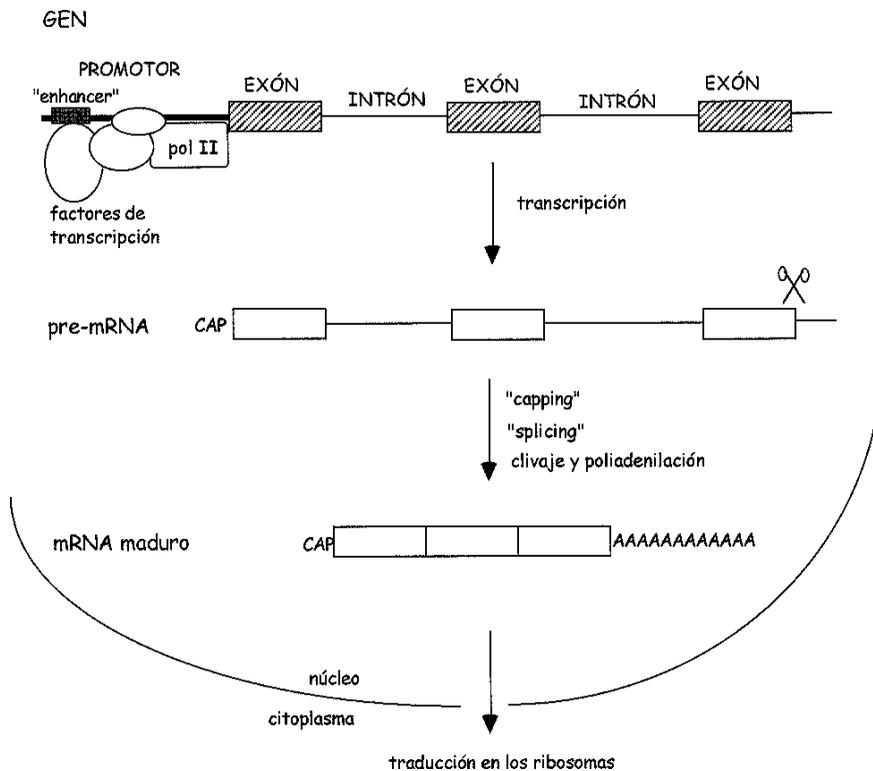


Fig. 1.- Estructura de un gen humano típico con tres exones y dos intrones mostrando los pasos nucleares del flujo de información genética. pol II: RNA polimerasa II. cap: 7-metil guanosina. La tijera marca el sitio en que se produce el clivaje del pre-mRNA y la posterior adición de la cola de poli-A (poliadenilación).

Regulación de la expresión genética

Uno de los problemas centrales de la biología es el de la diferenciación celular. Dado que todas las células de un organismo pluricelular tienen el mismo DNA, o sea, la misma información genética, ¿qué es lo que hace que un hígado sea hígado; un cerebro, cerebro o un riñón, riñón?

Si bien este problema no ha sido resuelto completamente, se sabe que es consecuencia de la regulación de la expresión genética, campo en el que se han realizado avances importantísimos, particularmente en los últimos 20 años.

No todas las secuencias de DNA contenidas dentro de un núcleo son informativas; y no todas aquellas que son informativas, los genes, se expresan (transcriben y traducen) al mismo tiempo y en el mismo lugar. En una célula de hígado, por ejemplo, sólo se expresa un subconjunto del conjunto de todos los genes. Dicho subconjunto es distinto de aquel que se expresa en una neurona. Ambos a su vez son distintos del subconjunto que se expresa en riñón. Por supuesto, habrá genes que pertenecen a los tres subconjuntos, como el de la actina, proteína citoplasmática presente en todas las células eucariotas. Pero también existen genes cuya expresión está restringida a un solo tejido, como por ejemplo el de la albúmina en hígado.

Uno de los puntos claves de la regulación de la expresión de los genes es el control de la transcripción. Dicho control no sólo se ocupa de "encender" o "apagar" genes (efecto del todo o nada) sino también de regular la velocidad de transcripción de los genes "encendidos". Cada gen se encuentra adosado a una región del DNA, llamada *promotor*, a la que se unen la enzima y otras proteínas encargadas de la transcripción. La región promotora viene precedida por una región regulatoria, donde se encuentran secuencias determinadas, llamadas *"enhancers"*, a las cuales se une un tipo de proteínas denominadas *factores de transcripción* (Fig. 1).

La interacción física entre cada enhancer y su factor de transcripción provoca cambios en la velocidad de transcripción, lo cual redundará en determinar la cantidad fabricada de RNA mensajero y de la proteína correspondiente. La naturaleza de las interacciones que se establecen entre DNA y proteínas son débiles, reversibles, pero altamente específicas. Esto quiere decir que el factor de transcripción se asocia a la secuencia de bases de su enhancer (no a otra) y, así como se asocia, también se disocia. Debilidad, reversibilidad y especificidad de unión son características primordiales de las interacciones entre moléculas para producir efectos biológicos. Una complicada red de interacciones entre macromoléculas, principalmente del tipo DNA-proteína y proteína-proteína, es la que enciende diferen-

cialmente los genes en los distintos tipos celulares. Algunos factores de transcripción son el producto de genes "maestros" que controlan la expresión de un grupo de genes supeditados. Por ejemplo, el gen *myoD* codifica para el factor de transcripción MyoD, una proteína nuclear que es capaz de activar a un conjunto definido de genes que, al expresarse, hacen que una célula se diferencie a fibra muscular estriada. Otro gen, maestro, *pax6* o *eyeless* controla desarrollo de los ojos en los animales gracias a que codifica para un factor de transcripción que "despierta" a un conjunto definido de genes que al expresarse, desencadenan la diferenciación del ojo en el embrión. Pruebas del papel fundamental de los genes maestros provienen de experimentos en los cuales se los obliga a expresarse ectópicamente. Por ejemplo, si se obliga a expresar la proteína MyoD en una célula que normalmente no la expresa, dicha célula se diferencia a célula muscular estriada. Análogamente si se generan insectos transgénicos (ver más abajo) que expresen el producto del gen *eyeless* en tejidos del embrión distintos de la cabeza, los adultos desarrollan ojos ectópicos (en las alas, las patas o las antenas!). Pruebas adicionales son aportadas por experimentos que anulan la función del gen maestro. Si se generan ratones donde se ha anulado la expresión de la proteína MyoD por completo en todas las células del embrión, éste llega a término, pero muere al nacer mostrando un fenotipo marcado por la ausencia total de músculo estriado esquelético (cardíaco y liso se forman normalmente). La ausencia de diafragma y la consiguiente imposibilidad de respirar son la causa de la muerte perinatal.

Ingeniería genética

El conocimiento de los mecanismos íntimos de la expresión genética y la diferenciación celular se ha incrementado espectacularmente en las dos últimas décadas gracias al advenimiento de la tecnología del DNA recombinante, conocida también como ingeniería genética. Este conjunto de metodologías no es un mero compendio de recetas técnicas sino una nueva manera de pensar y resolver problemas biológicos de un modo más directo. Por otra parte sus aplicaciones en el terreno de la salud, la agricultura y la industria son tan importantes que han rejuvenecido y revolucionado las antiguas prácticas biotecnológicas.

A principio de los 70 se inventaron las técnicas para clonar, es decir aislar y purificar, genes. Se trata del clonado molecular, que no debe ser confundido con el clonado de individuos. El clonado molecular implica llegar a tener un gen particular puro. Ya se han clonado decenas de miles de genes humanos y de otros organismos. De la mayor parte de ellos se conoce con preci-

sión la secuencia nucleotídica y la especificidad tisular y temporal de su expresión. Excede el propósito de este trabajo describir en detalle cómo se clona un gen. Baste mencionar que si bien es un proceso complicado, se realiza rutinariamente en los laboratorios de investigación, incluso en muchos de nuestro país. Para clonar genes se utilizan herramientas de la bioquímica y de la microbiología.

La obtención de genes clonados permite elaborar estrategias experimentales para introducirlos en células que no son necesariamente las del tipo del cual se los extrajo. Es posible, en consecuencia, "saltar" la barrera evolutiva e introducir un gen de una especie en otra. Por ejemplo, la introducción de ciertos genes humanos en bacterias tiene interés biomédico. Puede expresarse en *E. coli*, el gen de la insulina humana y así producir la hormona en gran escala en fermentadores industriales. Lo propio se ha hecho para producir interferón humano.

Los genes clonados también pueden ser introducidos en levaduras. Estas son hongos unicelulares, cultivables en fermentadores en gran escala al igual que las bacterias, pero que por ser eucariotas presentan la ventaja de provocar en las proteínas fabricadas las mismas modificaciones que realizan las células de mamíferos. Se han usado levaduras modificadas por ingeniería genética para producir vacuna contra la hepatitis B, por ejemplo.

Las células animales pueden ser cultivadas en el laboratorio. Existen decenas de cultivos celulares humanos y centenares de otras especies. La introducción de un gen foráneo en un cultivo celular modifica su información y el cultivo así transformado puede ser aprovechado para fabricar la proteína recombinante. La eritropoyetina recombinante humana, fármaco que estimula la generación de glóbulos rojos por la médula ósea, es fabricada en nuestro país mediante esta tecnología. Células de mamíferos transformadas por ingeniería genética también han sido utilizadas para producir EGF, factor de crecimiento epidérmico, para el tratamiento de quemaduras graves. También se fabrican así hormona de crecimiento humana o factores de coagulación para el tratamiento de la hemofilia.

Animales transgénicos

Quizás los experimentos más espectaculares de ingeniería genética sean los que permiten modificar la información de un organismo pluricelular entero. En efecto, si un gen clonado es introducido en el núcleo de un óvulo de ratón fecundado mediante microinyección con pipetas capilares, las moléculas del gen foráneo se insertan al azar en uno o más sitios de los cromosomas del cigoto. Al reimplantarlo en el útero de una madre adoptiva, el cigoto continúa su desarrollo embrionario

hasta el nacimiento. El ratón derivado de tal cigoto es denominado *transgénico* y posee una o más copias del gen foráneo, o *transgén*, en todas sus células. El transgén es transmitido a la descendencia de los ratones transgénicos de manera estable y siguiendo las leyes de la herencia.

Dependiendo del diseño experimental, el transgén se expresará en todos o en alguno de los tejidos del ratón transgénico. De esta manera se ha cambiado la información original y el programa de expresión en el animal entero.

Los ratones transgénicos son excelentes "tubos de ensayo" para estudios básicos sobre diferenciación celular, cáncer e inmunología. Según la naturaleza del transgén, pueden obtenerse cambios fenotípicos considerables, tal como ocurrió con los ratones transgénicos para el gen de la hormona de crecimiento, los cuales crecieron más rápidamente y hasta un tamaño del doble que los ratones normales. El ratón no es el único modelo experimental para la transgénesis. Ya se han producido peces, conejos, cabras, ovejas, cerdos y vacas transgénicas. En el caso de estos animales más grandes, la idea no es usarlos como "tubos de ensayo", sino transformar sus genomas en beneficio del hombre, de manera tal, por ejemplo, de producir proteínas recombinantes humanas de uso terapéutico, en sangre, carne o leche y luego purificarlas. Es lo que se ha dado en llamar *genetic farming*, o crianza de animales que funcionen como "fábricas" de proteínas humanas. El activador tisular de plasminógeno humano (hTPA), una enzima usada en la disolución de trombos causantes de accidentes cardiovasculares, es actualmente producido en la leche de cabras transgénicas generadas a tal efecto.

Así como pueden obtenerse animales transgénicos, también se generan plantas transgénicas. En ellas se introducen genes que causen resistencia a herbicidas o a plagas, por ejemplo, o que mejoren las características de frutos y semillas.

Transgénesis en humanos y terapia génica

Ante la multiplicidad de experimentos de transgénesis, surge evidentemente la siguiente pregunta: ¿es posible generar humanos transgénicos? Ni teórica ni conceptualmente existen restricciones para el experimento. Quizás haya algunas dificultades metodológicas que no son insalvables. Las objeciones tienen más que ver con la ética o con la posible utilidad de tal tipo de experimento. Si la idea es una terapia génica *in ovo*, es decir introducir un gen sano en el cigoto, para revertir los efectos nocivos de una mutación causante de una enfermedad hereditaria, la respuesta, por ahora, es que no tiene sentido. En primer lugar, porque la inserción de un transgén en los cromosomas del cigoto es un fenómeno incontro-

lable y azaroso. No puede predecirse cuántas copias se van a insertar, ni en qué sitios. Además, para tener éxito, deberían microinyectarse numerosos óvulos fecundados humanos, de los cuales sólo un pequeño porcentaje sobreviviría y daría embriones. Esto es, la propia metodología llevaría a desechar o malograr embriones. Por otra parte, cualquiera sea la naturaleza del defecto hereditario (dominante o recesivo) que se pretende corregir, los padres portadores de genes defectuosos naturalmente generarán embriones sanos y enfermos en distintas proporciones. Por consiguiente, si el intento de transgénesis ya implica manipulación y descarte de embriones humanos, parece mucho más razonable destinar esfuerzos a identificar mediante diagnóstico por biología molecular los embriones naturalmente sanos y reimplantar sólo éstos. Este tipo de diagnóstico no es fantasía. Ya se lo ha practicado retirando sólo dos o tres células de un embrión de diez, sin alterar el normal desarrollo de las restantes. Estos hechos, sumados a los riesgos que implica el desconocimiento de los íntimos mecanismos de regulación de la expresión genética, sumados al problema ético de modificar adrede la información genética humana descalifican, a mi juicio, la transgénesis en humanos.

No obstante, la terapia génica de adultos se ha revelado como una metodología extremadamente promisoría para curar enfermedades hereditarias. La misma consiste en introducir el gen normal clonado en un grupo numéricamente importante de células de un órgano del paciente. Los problemas estratégicos de la terapia génica están relacionados con la elección del órgano "blanco", y la vía de introducción del gen foráneo de manera tal de llegar al mayor número posible de células. Experimentos piloto realizados en los EE.UU., han logrado curar enfermedades tales como la inmunodeficiencia causada por deficiencia en adenosina deaminasa y, más recientemente, un tipo de hipercolesterolemia familiar, una enfermedad que provoca infartos y otros problemas cardiovasculares en edades muy tempranas. El órgano blanco ideal es probablemente la médula ósea, aunque ha habido éxito con hígado, linfocitos circulantes y epitelio pulmonar. La terapia génica no corrige el defecto en todas las células del paciente, sino sólo en algunas. La curación ocurre porque dichas células comienzan a fabricar la proteína sana, supliendo a la ausente o adicionándose a la defectuosa. El efecto curativo no es transmitido a la descendencia ya que las células germinales no han recibido el gen sano. Si bien existen grandes expectativas sobre el éxito de las terapias genéticas, por el momento se encuentran en etapa de experimentación clínica. Pese a que el éxito mayor ha sido obtenido con las enfermedades hereditarias, la mayor parte de los protocolos aprobados están relacionados con terapias genéticas del cáncer, terreno en el cual los resultados no parecen ser tan promisorios.

Knock-out de genes

Hemos visto hasta aquí diversos ejemplos y usos de la introducción de genes clonados en células y organismos. Podríamos caracterizarlos como experimentos de adición. Se agrega un gen y, una proteína y/o una función a las ya existentes. Pero, ¿qué sucede si uno anula o elimina un gen en particular dentro de una célula? Pues en primer lugar puede determinar si ese gen era esencial o no. Si la célula muere, la anulación del gen es letal. Ergo, dicho gen es esencial. Si la célula vive, podrán estudiarse los efectos causados por la anulación. Hoy es posible realizar, mediante sofisticados métodos de ingeniería genética, la anulación de un gen dado en todas las células de un organismo entero, en particular el ratón. Es lo que se conoce en la jerga como *knock out* de genes. Este tipo de experimentación es de fundamental importancia porque permite establecer la función de cada uno de los genes en el organismo entero, a través de los efectos causados por su anulación, evaluando fenómenos macroscópicos como la fisiología, la morfología, el desarrollo y el comportamiento. Los biólogos que llevan a cabo experimentos de *knock out* generalmente no saben con qué fenotipo se van a encontrar en el animal obtenido. Para sorpresa de muchos, se observa en algunos casos que la anulación de un gen cuyo producto se creía esencial para las células, produce ratones morfológica y funcionalmente normales. Esto revela una característica bastante común en los organismos superiores: la *redundancia* de genes. ¿Qué significa esto? Pues que existen varios genes diferentes, cuyos productos pueden realizar funciones similares. Al eliminar sólo uno de ellos, los productos de los genes redundantes suplen la falencia sin que se observen cambios fenotípicos. No obstante, en aquellos *knock outs* de genes no redundantes, se obtiene una información valiosísima.

Diagnóstico médico

En la última década, las investigaciones en biología molecular provocaron desarrollos biotecnológicos de fundamental importancia en el campo de la salud, la agricultura y la industria alimentaria. Súbitamente, la "academia" universitaria comenzó a relacionarse con el mundo empresario. Los proyectos de investigación básica ya no sólo sirven para formar recursos humanos capaces de ser transferidos a la actividad productiva, sino también para desarrollar productos y servicios, o las metodologías que los posibilitan.

En el campo del diagnóstico médico, la rapidez de la transferencia tecnológica desde el laboratorio de investigación básica al de análisis clínicos se produce en gran parte debido al invento de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (*polymerase chain reaction*).

La PCR ha permitido el desarrollo de nuevas estrategias diagnósticas en numerosos campos de la medicina. Por ejemplo, existen métodos de detección por PCR de agentes infecciosos como los virus de las hepatitis B y C, del papiloma y del SIDA. También pueden detectarse otros microorganismos patógenos como las clamidias, las micobacterias que causan tuberculosis, los *Helicobacter* causantes de gastritis y los tripanosomas responsables de la enfermedad de Chagas.

La manera clásica de diagnosticar enfermedades infecciosas, y en particular las causadas por virus, consiste en detectar los anticuerpos que el paciente produce contra el virus. Si hay anticuerpos circulantes se sabe que hay o hubo infección, pero no se puede distinguir entre las dos posibilidades. Puede que el paciente ya se haya curado del virus pero que aún presente anticuerpos en sangre. En cambio, la detección directa del genoma del patógeno mediante PCR permite saber con certeza si hay o no infección en el momento del análisis. Esto cobra importancia en el diagnóstico de SIDA en recién nacidos de madres seropositivas. En tales casos, la detección de anticuerpos no es útil para el diagnóstico porque los bebés, infectados o no, presentan anticuerpos contra el virus HIV en su sangre provenientes de la madre a través de la placenta.

La PCR ha facilitado enormemente el diagnóstico de enfermedades hereditarias. Talasemias y otras anemias, fenilcetonuria, hemofilia, distrofia muscular de Duchenne, fibrosis quística, poliquistosis renal, retardo mental asociado a fragilidad del cromosoma X, corea de Huntington, enfermedades de Sandhoff y de Gaucher constituyen los ejemplos más notorios. Los genes responsables de estas enfermedades han sido aislados y caracterizados recientemente y ya se encuentran disponibles pruebas diagnósticas seguras. En algunos casos las mismas pueden ser aplicadas para identificar dentro de una familia a los portadores, es decir, individuos que transmiten la enfermedad pero que no la padecen, los sanos y los afectados. Pueden ser utilizadas para el diagnóstico prenatal, mediante el análisis del DNA de una biopsia del feto, o para el diagnóstico presintomático, sobre todo en casos como los de la corea de Huntington o la poliquistosis renal donde los síntomas aparecen tardíamente.

En enfermedades oncológicas pueden detectarse por PCR mutaciones de oncogenes. Los oncogenes son genes presentes en todas las células del organismo, cuyos productos cumplen funciones importantes para el funcionamiento normal de la célula. Alteraciones (mutaciones) de estos oncogenes contribuyen a la generación de tumores y, en algunos casos, el saber cuál es el oncogén mutado permite diagnosticar prematuramente cánceres de naturaleza hereditaria o establecer pronósticos.

Se han implementado métodos por PCR para la evaluación del riesgo de padecer trastornos autoinmunes

tales como diabetes dependiente de insulina, enfermedad celíaca y esclerosis múltiple. En estos casos se analizan los genes de los llamados "antígenos" de histocompatibilidad o HLA, los cuales codifican para una serie de proteínas de la membrana celular que participan en la iniciación de la respuesta inmune. Si bien estos genes no son los responsables directos de las enfermedades autoinmunes, existe una correlación comprobada entre la presencia de ciertas variantes de los genes HLA y el riesgo de padecerlas.

Determinación de identidad y lazos biológicos

La información genética nuclear proviene en iguales proporciones de la madre y del padre. Cada gen o región intergénica puede presentar múltiples variantes (por ej. a, b, c, d) en los distintos individuos de la población. Pero lo importante es que cada individuo lleva en sus células sólo dos de esas variantes. Así, para un gen dado, habrá individuos aa, ab, ac, ad, bb, bc, bd, cc y cd, sabiendo con certeza que en cada uno de ellos, una de las variantes proviene del padre y la otra de la madre. Si se analizan los pares de variantes de distintos genes de una persona se observará un patrón característico y exclusivo, al que llamamos "huella digital" del DNA, y que constituye la base genética de su identidad.

La PCR y otras técnicas de análisis del DNA permiten determinar cuál es la "huella" genética de cada individuo mediante un análisis de sangre realizable en nuestro país tanto en instituciones públicas como privadas. Al comparar "huellas" de distintos individuos pueden confirmarse o descartarse lazos de parentesco entre los mismos, con un altísimo grado de certeza. Esta es sin duda la ventaja más importante de la utilización del análisis del DNA para la determinación de paternidad, respecto de los métodos clásicos, como la tipificación de grupos sanguíneos o los marcadores de histocompatibilidad (HLA). Si en los métodos tradicionales puede llegarse a estimar inclusión con una certidumbre que oscila entre el 90 y 98%, en el análisis del DNA, usualmente se manejan estimaciones que tienen un grado de confiabilidad mayor del 99,999.

Esta poderosa metodología ha permitido resolver muchos casos de identidad tanto a partir de individuos vivos como de muestras forenses (el análisis puede hacerse con muestras de raíz de pelo, semen, sangre seca, restos humanos no identificados provenientes de incendios, explosiones, huesos u otros restos exhumados). Los modernos métodos de filiación han sido muy útiles para los organismos de Derechos Humanos y en particular para las Abuelas de Plaza de Mayo en la identificación de hijos de desaparecidos. En estos casos, al faltar los padres, el método de elección para establecer lazo

biológico con los abuelos es el estudio del DNA de las mitocondrias. Estas provienen evolutivamente de las bacterias y en consecuencia conservan su propio DNA, el cual se hereda por vía exclusivamente materna. Esto es así debido a que en la fecundación, el espermatozoide inyecta su núcleo en el óvulo, de manera tal que las mitocondrias del nuevo individuo provendrán mayormente de aquellas que ya se encontraban presentes en el óvulo materno. A diferencia del análisis del DNA nuclear, donde el grado de certeza en el establecimiento del lazo biológico disminuye al alejarse el parentesco, el análisis del DNA mitocondrial permite asignar con el mismo y alto grado de certeza lazos con la madre u otros familiares por vía materna (abuela materna, tíos maternos, tíos abuelos maternos).

Clonado de animales por trasplante nuclear. ¿Clonado de humanos?

El llamado clonado de animales, ejemplificado por el experimento de la oveja Dolly, consiste en el trasplante de un núcleo proveniente de una célula somática de un adulto o embrión, a un huevo al cual previamente se le ha inactivado su propio núcleo. El cigoto obtenido da origen a un embrión y luego a un adulto que resulta genéticamente idéntico al organismo del cual se extrajo el núcleo. Se trata de un tipo de reproducción asexual, como resultado de la cual se genera un individuo totalmente comparable a un gemelo univitelino del individuo del cual se extrajo el núcleo, aunque desfasado en el tiempo. Este tipo de experimentos no hacen otra cosa que confirmar que cualquier núcleo de una célula de un adulto tiene toda la información genética necesaria para generar un nuevo individuo, siempre y cuando se lo ubique en las condiciones adecuadas. El individuo "clonado" no surge espontáneamente de ninguna máquina o tubo de ensayo. El huevo con el núcleo transplantado debe necesariamente completar su desarrollo en el útero de una madre y nacer como cualquier bebé. Su identidad e individualidad estarán dadas no sólo por su patrimonio genético particular sino también, y fundamentalmente, por la influencia inevitable del medio ambiente físico, biológico y cultural, a través de una historia que comienza en el propio útero materno y continúa dinámicamente de por vida.

El experimento de Dolly no ha aportado ninguna novedad conceptual a la biología moderna. La demostración experimental de que los núcleos somáticos tenían toda la información genética y que podían generar un organismo completo fue realizada en ranas africanas, ya en la década del 60, por el eminente biólogo inglés John Gurdon. El experimento de Dolly o sus similares aportan la novedad de que fueron realizados en mamíferos (en especies evolutivamente más cercana al hombre y de uso corriente en la explotación agropecuaria, la

industria farmacéutica y la experimentación básica). Por otra parte es la primera vez que se demuestra que un núcleo proveniente de una célula muy especializada, tal como la glándula mamaria, tiene totipotencia. Desde el punto de vista de la investigación en fisiología, patologías e inmunología, la generación de animales por trasplante nuclear abre un campo de experimentación fundamental que permitirá avanzar en el conocimiento de las causas y la cura de enfermedades humanas. En este sentido, la técnica representa un avance cualitativo en el conocimiento científico en beneficio del hombre. Su uso en animales no implica mayores riesgos de obtención de nuevas especies animales que aquellos resultantes de la activa selección genética realizada por la especie humana sobre otras especies vegetales y animales desde hace decenas de miles de años. Esas prácticas de selección artificial de variantes genéticas en poblaciones naturales dieron origen a los llamados animales domésticos y plantas cultivadas, las cuales por su diferenciación morfológica y fisiológica podrían ser consideradas "monstruos" si se las compara con las especies a partir de las que fueron seleccionadas.

Un eventual "clonado" de seres humanos estaría basado en los mismos principios biológicos mencionados más arriba. No obstante, indudablemente la idea provoca una serie de reflexiones, temores y consideraciones éticas dignas de la mayor consideración. Muchas, sino la mayoría de las preocupaciones son similares a las que provocan los distintos procedimientos de fertilización asistida. En ese sentido, la sociedad ya tiene una práctica de debate y, en algunos casos una legislación que dan cuenta de cambios progresivos en las concepciones bioéticas en función del bienestar y la salud humanos. Los temores de la generación de monstruos, de la esclavización de "clones" por parte de otros humanos y de la producción en serie de seres humanos "deshumanizados" son totalmente atendibles y deben ser tenidos en cuenta por los científicos, las autoridades y la sociedad en general. No obstante, es mi opinión que gran parte de esos temores son producto del desconocimiento real de lo que el trasplante nuclear significa y de sus potenciales peligros para los seres humanos. Este desconocimiento, sumado a la influencia de alguna prensa sensacionalista, alimenta fantasías de poca base objetiva. Una actitud cauta por parte de las autoridades y legisladores debería contemplar los hechos objetivos, balancear los posibles beneficios y prevenir los malos usos de la ciencia, hecho este último que no se restringe a la experimentación biológica y del cual la humanidad ha dado lamentablemente muestras a lo largo de su historia.

Un ejemplo reflexivo y cauto respecto de las medidas a tomar en los experimentos de trasplante nuclear es el de la reciente declaración de la American Society for Cell Biology (ASCB), de los Estados Unidos de Norteamérica. La misma dice:

"A pedido de la Comisión Asesora Nacional sobre Bioética, la American Society for Cell Biology (ASCB) recomendó en 1997 una moratoria nacional voluntaria sobre transferencia nuclear humana cuyo propósito fuera crear un nuevo ser humano. Esta debería brindar a los científicos y al público la oportunidad de determinar la seguridad y lo apropiado de tal experimentación.

La ASCB sigue apoyando tal moratoria como una respuesta transitoria constructiva a las preocupaciones surgidas por el clonado de una oveja adulta. Sin embargo, recientes acontecimientos en los EE.UU. han escalado e infundido una nueva urgencia en este debate, dando como resultado pedidos de una legislación regulatoria.

La ASCB solicita que en el caso de necesidad de una legislación, ésta debe estar específicamente relacionada con la reproducción de un ser humano por trasplante nuclear. Al mismo tiempo, ninguna legislación debería impedir o interferir con investigaciones existentes y potenciales, fundamentales para la prevención o cura de enfermedades humanas. Estas investigaciones a menu-

do incluyen el clonado de líneas celulares y DNA humanos y animales, pero no de seres humanos completos.

La ASCB recomendó una moratoria de 3 a 4 años sobre la transferencia nuclear humana con el propósito de crear un nuevo ser humano con el fin de permitir tiempo para evaluar la seguridad y las opiniones públicas sobre tales procedimientos. La ASCB solicita que la recomendación de la Comisión sea la base para cualquier legislación federal". ASCB, enero de 1998.

Lecturas recomendadas

- Alberts B, Bray D, Johnson A, et al. Essentials in Cell Biology. An Introduction to the Molecular Biology of the cell. New York: Garland Publishing 1997.
- Cox TM, Sinclair J. Biología Molecular en Medicina, Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. 1998.
- Lewin B. Genes VI. Philadelphia: John Wiley & Sons 1998.
- Satz ML, Kornblihtt AR. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y sus aplicaciones. *Ciencia Hoy* 1993; 4: 53-9.

The developing countries are still losing too many of their best scientists to the world's wealthier research centers. Yet the negative aspects of this movement can be in part counteracted by increased mobility and informed sharing, current trends that facilitate intensive training courses, the sharing of big science facilities, and networks linking expatriate researchers to their home country institutions—all strategies supported by the UNESCO. In this drive to establish new ways of doing science, the leading industrialized countries clearly have much to offer. The United States, in particular, has the world's strongest science base, a tradition of individual rights, a record of reacting positively to change, and some of the world's largest knowledge-intensive corporations. If the business sector takes note of the potential benefits of a new relationship between science and society, then public and private interests would converge, generating a force for progress powerful enough to meet the challenges of the new century.

Los países en vías de desarrollo siguen perdiendo demasiado de sus mejores científicos hacia los centros de investigación de países más pudientes. Sin embargo, el aspecto negativo de este movimiento puede ser en parte contrarrestado por una mayor movilidad y la posibilidad de compartir información, facilitando cursos de entrenamiento y colaboración de investigadores expatriados con sus países de origen —todas estrategias apoyadas por la UNESCO. En este afán de establecer nuevas formas de hacer investigación, las naciones industrializadas obviamente tienen mucho que ofrecer. Los Estados Unidos, en particular, tienen la más potente base científica, una tradición de derechos individuales, un récord de reaccionar positivamente frente a cualquier cambio, y algunas de las más importantes corporaciones dedicadas a intensificar el conocimiento. Si el sector empresarial se da cuenta de los beneficiosos potenciales de esta nueva relación entre la ciencia y la sociedad, entonces los intereses públicos y privados podrán converger, generando una fuerza hacia el progreso suficientemente potente para enfrentar los desafíos del nuevo siglo.

Federico Mayor

Director-General of the United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization.

Editorial. The World Conference on Science. *Science* 1999; 285: 529