

Artículo de revisión

Impacto de la biotecnología en la inmunología

Ricardo A Gómez Flores,* Reyes S Tamez Guerra,* Patricia Tamez Guerra,* Cristina Rodríguez Padilla*

RESUMEN

La biotecnología ha conducido al desarrollo de la inmunología en la generación de pruebas diagnósticas, fármacos y vacunas, útiles en la profilaxia, diagnóstico y tratamiento de una variedad de enfermedades infecciosas y autoinmunitarias y el cáncer. Hoy en día se reconoce que no sólo los investigadores, sino también las principales compañías farmacéuticas internacionales, han comprendido que la terapia tradicional con productos químicos y farmacéuticos está siendo reemplazada por productos derivados de la biotecnología, particularmente la aplicada a la inmunología (conocida como inmunobiología), principalmente por su efectividad en aspectos de salud, pero también debido a que es ecológicamente sustentable y generadora de riqueza comercial.

ABSTRACT

Biotechnology has led to the development of Immunology in generating diagnostic tests, drugs and vaccines, useful in prophylaxis, diagnosis and therapy of a variety of infectious and autoimmune diseases and cancer. Today it is recognized that not only researchers but also major international pharmaceutical companies have realized that traditional therapies with chemical and pharmaceutical products is being replaced by products derived from biotechnology, particularly the one applied to Immunology (known as Immunobiotechnology), mainly due to its effectiveness in health issues, but also because it is environmentally sustainable and a wealth-generating business.

La biotecnología ha conducido al desarrollo de la inmunología mediante la generación de pruebas diagnósticas, fármacos y vacunas útiles en la profilaxia, diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas y autoinmunitarias y del cáncer. Actualmente se reconoce que no sólo los investigadores, sino también las principales compañías farmacéuticas internacionales han comprendido que los productos químicos y farmacéuticos de la terapia tradicional están siendo reemplazados por productos derivados de la biotecnología, sobre todo de la aplicada a la inmunología (conocida como inmunobiología), principalmente por su efecto positivo en la salud, pero también debido a que son ecológicamente sustentables y generadores de riqueza comercial.¹⁻⁴

La biotecnología tiene un efecto directo en el desarrollo de vacunas contra enfermedades infecciosas y cáncer; en la producción de anticuerpos monoclonales para utilizar como misiles dirigidos contra el cáncer; en la generación de anticuerpos específicos contra ciertos parásitos; en la síntesis de fármacos, hormonas y productos para

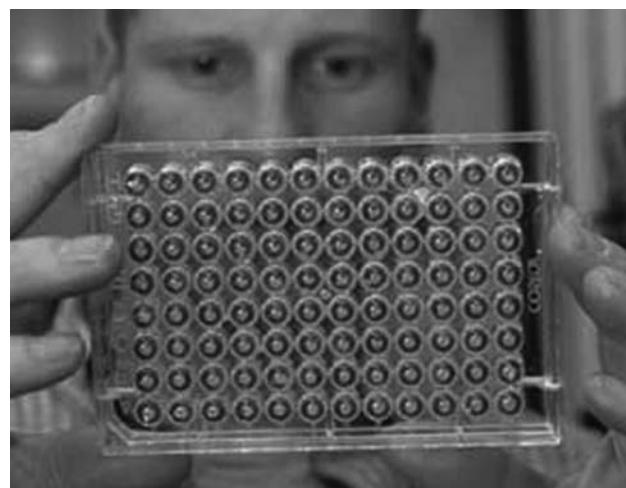


Figura 1. Producción de hibridomas. Los hibridomas son el resultado de la fusión entre las células del bazo y las de un mieloma. Estas células producen anticuerpos monoclonales de especificidad predefinida.

* Laboratorio de inmunología y virología, Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL.

Correspondencia: Dr. Ricardo Gómez Flores. Río Guadaluquivir 401-B oriente, colonia del Valle, CP 66220, San Pedro Garza García, Nuevo León.

Recibido: febrero, 2008. Aceptado: abril, 2008.

Este artículo debe citarse como: Gómez FRA, Tamez GRS, Tamez GP, Rodríguez PC. Impacto de la biotecnología en la inmunología. Medicina Universitaria 2008;10(39):92-101.

La versión completa de este artículo también está disponible en: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx, www.meduconuanl.com.mx

la salud; en la obtención de plantas transgénicas; en la farmacogenómica que permite la creación de nuevos fármacos y su adaptación a las necesidades de cada paciente; en la terapia regenerativa con células madre que repara tejidos y órganos dañados; en la mejora genética de especies vegetales y animales; en la terapia de reemplazo de genes y de enzimas; en el uso de virus entomopatógenos, especialmente de baculovirus, como bioinsecticidas; en la generación de biocombustibles, y en la producción de sistemas acarreadores de fármacos.¹⁻¹⁰

En la actualidad existen más de 200 fármacos y vacunas biotecnológicos que incrementan la esperanza y la calidad de vida de millones de personas en el mundo, y están en desarrollo casi 400 más contra el cáncer, el Alzheimer, la esclerosis múltiple, la artritis, el SIDA y las enfermedades cardiovasculares.¹⁰

En México la biotecnología está en constante crecimiento, ya que además de una rica diversidad biológica, se cuenta con numerosas instituciones, programas científicos y académicos, estudiantes, profesores e investigadores, productos y compañías relacionados con ella. Uno de los más importantes y prolíficos precursores de esta ciencia es el doctor Francisco Bolívar, creador del plásmido pBR 322. El potencial de la biotecnología en México se encuentra fundamentalmente en los sectores agrícola (nuevas variedades de cultivos, inoculantes, biopesticidas, certificación de semillas), salud (fármacos, vacunas y sueros contra venenos), medio ambiente (registro de



Figura 2. Bacterias transgénicas. Para producir una bacteria transgénica, se introduce un plásmido que contiene el transgén y una secuencia que sirve para la selección de las bacterias transformadas. La bacteria más utilizada es *Escherichia coli* para la producción de insulina o vacunas.

especies, remediación en sitios contaminados, tratamiento de residuos urbanos, agrícolas e industriales, producción de energía a partir de biomasa), acuacultura (vacunas contra enfermedades de peces para la alimentación humana, nuevas sustancias de uso médico e industrial), pecuario (pruebas diagnósticas de enfermedades animales, uso de animales para la salud humana) e industrial (fuentes alternas de energía que sean sustentables).^{11,12}

EL SISTEMA INMUNITARIO

En la lucha por la existencia, los organismos están expuestos a una legión de invasores como: virus, bacterias, protozoarios, hongos o moléculas producidas por ellos. Para impedir los efectos tóxicos, los organismos han desarrollado a lo largo de la evolución una serie de mecanismos de defensa, de los que el más sofisticado es el sistema inmunitario. Este sistema es capaz de responder a un gran número de moléculas antigenicas (extrañas al organismo) que pueden introducirse en cualquier parte del cuerpo. La inmunidad innata y la adaptativa poseen células especializadas que reconocen al agente invasor y lo destruyen o neutralizan; para esto, la inmunidad innata o inespecífica se ayuda de los macrófagos, las células asesinas naturales y los neutrófilos, mientras que en la adaptativa los linfocitos se encargan de reconocer y responder en forma específica a los antígenos.

Existen dos tipos de linfocitos, los llamados B (debido a que inicialmente se detectaron en la bursa de Fabricio de las aves) que se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos (inmunidad humoral) y los linfocitos T, que aparecen en el timo y que tienen como función regular la inmunidad celular en contra de parásitos, enfermedades virales y cáncer (inmunidad celular). Los linfocitos T se subdividen en células T cooperadoras o auxiliares y células supresoras-citotóxicas. En respuesta a un reto antigenico, los linfocitos T cooperadores producen interleucinas, interferón γ y factores de crecimiento cuya función es la de promover la proliferación, diferenciación y activación de los linfocitos T y B, y de los macrófagos.¹³⁻¹⁶

Los macrófagos tienen un papel central en la respuesta inmunitaria debido a que se encargan de regular el funcionamiento de la inmunidad humoral y celular. Protegen al organismo contra enfermedades infecciosas y cáncer mediante la producción de sustancias citotóxicas como el

óxido nítrico y el factor de necrosis tumoral alfa. Cuando detecta un antígeno, el macrófago lo fagocita y lo transporta a los ganglios linfáticos. Allí presenta fragmentos del antígeno a los linfocitos T, que forman linfocitos T citotóxicos que pueden destruir directamente las células infectadas, y linfocitos T cooperadores, que facilitan el desarrollo de los linfocitos B. Los linfocitos T citotóxicos tienen en la superficie moléculas receptoras semejantes a los anticuerpos, mediante las cuales se unen específicamente a los antígenos de la membrana celular. El linfocito inyecta sus enzimas en el interior de la célula y provoca su degradación. Este tipo de linfocitos es el responsable de la respuesta antitumoral y del rechazo en los trasplantes de tejidos. Los linfocitos B se activan ante el antígeno y se encargan de elaborar un anticuerpo específico; sin embargo, no empiezan a producirlo mientras no reciban la “señal” de los linfocitos T auxiliares. Finalmente, superado el reto antigénico (infección, cáncer), los linfocitos T supresores se encargan de detener las reacciones inmunitarias.

LA BIOTECNOLOGÍA

La biotecnología comenzó al descubrir que los jugos de las frutas se fermentaban para formar vino, la leche podía convertirse en queso o yogur, o que la cerveza podía pre-

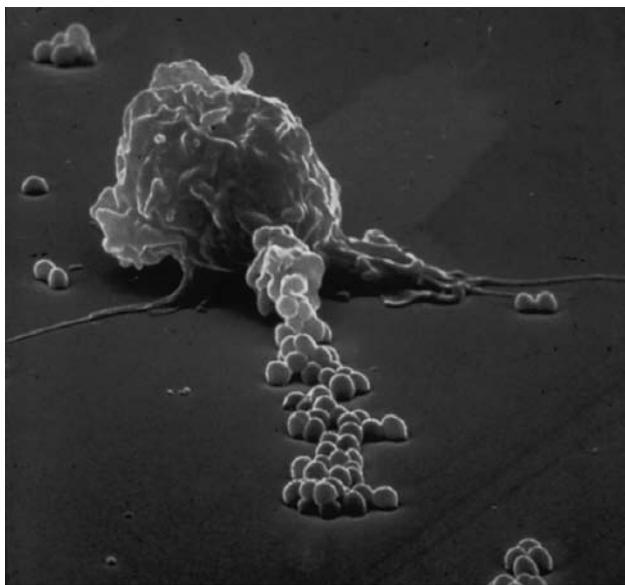


Figura 3. Macrófagos. Junto con los linfocitos, los macrófagos son responsables de defender al organismo de los intrusos, en esta fotografía se aprecia un macrófago eliminando bacterias.

pararse mediante la fermentación de soluciones de malta y cebada. El término biotecnología, acuñado en 1919 por Karl Ereky, se refiere a la utilización de organismos vivos o sus productos para modificar la salud y el medio ambiente de los seres humanos.¹⁷ Ha conducido a una revolución biológica; además, ha suministrado productos derivados de la ingeniería genética que provienen de la naturaleza en lugar de procesos químicos o industriales. Las principales áreas de estudio que se consideran parte de la biotecnología son: ingeniería genética, ingeniería de bioprocessos, bioseparaciones, cultivo de tejidos y tecnología enzimática, las cuales tienen diversas aplicaciones en los sectores agropecuario, alimentario, farmacéutico, industrial, ecológico, energético y de salud.¹⁸

La era moderna de la biotecnología tuvo sus orígenes en 1953, cuando el bioquímico norteamericano James Watson y el biofísico británico Francis Crick presentaron su modelo de doble hélice del ADN. A esto le siguió el descubrimiento que hizo el microbiólogo suizo Werner Arber en la década de 1960 de las enzimas de restricción en bacterias. Dichas enzimas cortan el ADN de cualquier organismo en puntos específicos. En 1973 el genetista Stanley Cohen y el bioquímico Herbert Boyer, ambos estadounidenses, removieron un gen específico de una bacteria y lo insertaron en otra mediante el uso de enzimas de restricción. Este hecho marcó el comienzo de la tecnología recombinante del ADN.¹⁹

El efecto que la biotecnología ha tenido en el mundo puede atribuirse esencialmente a varios factores: *a)* el potencial casi ilimitado de los sistemas biológicos para producir, de forma económica, una extensa variedad de sustancias, *b)* el desarrollo de nuevas técnicas de ingeniería genética y sus aplicaciones, y *c)* el hecho de que los procesos biotecnológicos usen recursos renovables como materias primas principales. La biotecnología tiene un papel esencial en el alivio de enfermedades, en el mejoramiento de la seguridad alimentaria y en la protección al medio ambiente en los países en desarrollo. Millones de personas en todo el mundo se han visto beneficiadas por innumerables productos derivados de la biotecnología y aprobados por la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) de Estados Unidos.¹⁸

PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO

La biotecnología también es responsable de cientos de pruebas de diagnóstico médico, como las de embarazo,

las de detección del virus del SIDA y de la hepatitis B que permiten la transfusión sanguínea segura, y las pruebas de detección en forma temprana de otros padecimientos médicos que pueden tratarse exitosamente.^{20,21} Mediante la biotecnología se ha creado una nueva prueba diagnóstica para calcular la cantidad de lipoproteínas de baja densidad (LDL) o colesterol “malo” en la sangre. El método convencional requiere un perfil de lípidos, incluido un costoso estudio que determina colesterol total, triglicéridos y lipoproteínas de alta densidad (HDL), para lo cual se necesita que el paciente haya pasado 12 horas de ayuno antes de tomar una muestra de sangre. La nueva prueba biotecnológica permite medir el LDL directamente, sin la necesidad del ayuno. Otros estudios importantes incluyen el desarrollo de pruebas de laboratorio para el diagnóstico temprano de enfermedades genéticas y la identificación de parásitos y agentes microbianos mediante el uso de enzimas de inmunoensayos (ELISA) y mapeo del genoma a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), o fragmentos de restricción polimórficos. La PCR puede detectar en siete minutos *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *Mycobacterium tuberculosis*, hepatitis C, enterovirus, *E. coli* enterotoxigenica y *Campylobacter*, entre otras bacterias.²² La tecnología del ADN recombinante también se utiliza para el control de enfermedades endémicas, como: malaria, leishmaniasis, tripanosomiasis y dengue, que afectan a un gran porcentaje de la población.

MEDICAMENTOS Y VACUNAS

La biotecnología usa proteínas, enzimas, anticuerpos y otras sustancias elaboradas naturalmente por el cuerpo humano para luchar contra las infecciones y enfermedades, y corregir trastornos genéticos. También utiliza otros organismos vivos (células de plantas y animales, virus y levaduras) para producir a gran escala medicamentos para uso humano. El cuerpo genera de forma natural miles de proteínas que luchan contra las enfermedades y controlan desde las concentraciones de azúcar en la sangre hasta el crecimiento. Los medicamentos biotecnológicos disponibles en la actualidad han sido aprobados por la FDA para tratar anemia, fibrosis quística, deficiencias del crecimiento, hemofilia, leucemia, hepatitis, verrugas genitales, rechazo de trasplantes y muchas formas de cáncer.²³

Las vacunas, por su parte, hacen a los individuos menos vulnerables a las enfermedades infecciosas. El proceso habitual para obtener una vacuna contra un virus en el laboratorio, por ejemplo, consiste en hacer crecer células infectadas con el virus para obtener grandes cantidades de partículas víricas que son inactivadas y debilitadas antes de inyectarse a personas o animales.^{2,3,5,24} Como respuesta a esta inyección, el sistema inmunitario del organismo prepara anticuerpos, de manera que si posteriormente el individuo es infectado por este virus activo, ya está a punto para defenderse contra la infección. No obstante, hay organismos que son difíciles de cultivar o hacer crecer en el laboratorio (virus de la hepatitis B), lo que impide la elaboración de vacunas tradicionales. Una vía para superar este problema la ofrece la tecnología de ADN recombinante,²⁵ que permite aislar alguno de los genes que llevan la información para proteínas que se encuentran en la superficie del patógeno contra el que se quiere obtener una vacuna. El gen en cuestión se introduce en bacterias, levaduras o células eucariotas, donde fabrica grandes cantidades de la proteína, que después se purifica y se utiliza como vacuna (recombinante).

Entre las vacunas recombinantes actualmente disponibles se encuentra la vacuna contra el virus de la hepatitis B. También se han producido y están en investigación vacunas recombinantes contra enfermedades como la



Figura 4. Laboratorios de nivel 3 de seguridad utilizados en la biotecnología para la producción de vacunas. Este nivel es el que se encuentra en laboratorios clínicos, de diagnóstico, algunos laboratorios universitarios (UANL) y también de investigación, en el cual se realiza trabajo con agentes biológicos que pueden causar un daño importante y potencialmente mortal como resultado de la inhalación o exposición a los mismos (por ejemplo, el virus del SIDA).

malaria, el cólera, la fiebre tifoidea, etc. Una variante que se está estudiando para obtener vacunas contra el virus de la inmunodeficiencia humana causante del SIDA, es la utilización directa del ADN viral, en lugar de las proteínas del virus.²⁵ Las vacunas de ADN contienen el gen o genes de una parte del virus que se supone puede inducir la formación de anticuerpos, como el gen de una proteína externa del virus. Las células del organismo captan ese ADN y fabrican la proteína viral. Dado que ésta es extraña al organismo, el sistema inmunitario genera los anticuerpos contra dicha proteína y prepara las células que lucharán también contra el virus en caso de que posteriormente ocurra la infección. Entre las ventajas que se le adjudican a este método frente al sistema tradicional de obtención de vacunas, están: que es más seguro, ya que no se precisa la inoculación de microorganismos o virus patógenos, aunque estén atenuados; y que provoca respuestas inmunitarias más potentes, puesto que se evita el proceso de atenuación que puede alterar las sustancias del patógeno que inducen la formación de anticuerpos. La efectividad de las vacunas de ADN se ha demostrado básicamente en algunos modelos animales.²⁵

PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS

Anticuerpos policlonales

El conocimiento de la especificidad, estructura y síntesis de los anticuerpos abre muchas puertas para su utilización como herramientas biotecnológicas.⁴ Cuando una sustancia extraña (antígeno) penetra o se inyecta en un vertebrado, una de las consecuencias de la respuesta es la producción de anticuerpos, que se da por las clonas de linfocitos B que poseen receptores para determinantes antigenicos diversos. En el bazo humano hay hasta 100 millones de clonas de distintos linfocitos B, precursores de las células plasmáticas. Cada uno crea un anticuerpo para un determinante antigenico; por lo tanto, el individuo responde generando una respuesta polyclonal. En el laboratorio clínico, los anticuerpos se utilizan como reactivos de diagnóstico, y en el futuro, serán utilizados en la terapia génica para tratar a pacientes inmuno-comprometidos.⁴ Los anticuerpos son proteínas que se unen a moléculas llamadas antígenos, especialmente a ciertas regiones denominadas determinantes antigenicos. Existe un número igual o mayor de especificidades de los anticuerpos que la cifra estimada de antígenos (10^7

a 10^8 moléculas) en la naturaleza. La biotecnología de los anticuerpos implica la bioingeniería de éstos y de los genes que codifican para su estructura. La interacción antígeno-anticuerpo representa la especificidad de un anticuerpo que se une a un determinante antigenico. Los cambios leves en la estructura química de un determinante antigenico podrían reducir o eliminar la capacidad de un anticuerpo para unirse a él.

La base de la interacción antígeno-anticuerpo es que un anticuerpo reconoce la conformación de un antígeno. Este tipo de interacción permite que los anticuerpos sean una herramienta biotecnológica muy valiosa en biología molecular, diagnóstico clínico y terapia médica. La primera técnica molecular que se desarrolló con base en los anticuerpos fue el método cuantitativo para la detección de precipitina. Este procedimiento mide directamente el contenido proteico que se encuentra en el precipitado proveniente de la interacción antígeno-anticuerpo. Se han desarrollado métodos más sensibles que el anterior, como el radioinmunoanálisis (RIA) y el inmunoanálisis de enzima ligada (ELISA), que utilizan radioisótopos y actividad enzimática, respectivamente, como sistema de detección de la interacción antígeno-anticuerpo. En el radioinmunoanálisis se conjuga un anticuerpo o un antígeno con un radioisótopo tal como el I¹³¹; mientras que en el ELISA se conjuga una enzima como la fosfatasa alcalina o la peroxidasa. La determinación de la unión antígeno-anticuerpo se basa en la cantidad de radioisótopo o actividad enzimática en el análisis. Hace poco se evaluó exitosamente un método de fluorescencia polarizada para detectar anticuerpos contra diversas infecciones, que es altamente específico y sensible.^{26,27}

Anticuerpos monoclonales

La mayor parte de los anticuerpos que se utilizan en estas técnicas son monoclonales, que tienen más ventajas que los policlonales.²⁸ En forma típica, un anticuerpo polyclonal se prepara inyectando un antígeno a un animal. La respuesta inmunitaria es heterogénea, ya que la población de anticuerpos que se genera representa la complementariedad y el potencial de unión a un amplio rango de determinantes en el antígeno. En 1975 se consiguió fusionar exitosamente linfocitos B productores de anticuerpos con células inmortales de un tumor llamado mieloma.²⁹ Las células resultantes, llamadas hibridomas, constituyen una fuente continua de anticuerpos homogéneos (monoclonales).

Para elaborar anticuerpos monoclonales (AcMo), primero se inmuniza a un ratón mediante el antígeno deseado y, cuando éste crea anticuerpos, se le extirpa el bazo con el objetivo de preparar una suspensión de células (alguna de las cuales producirá el anticuerpo deseado) para luego fusionarlas con una línea celular mielomatosa mantenida en cultivo y que no secreta inmunoglobulinas. Se aislan las células fusionadas (células híbridas o hibridomas) que elaboran los anticuerpos monoclonales deseados, se cultivan para que se expandan y, finalmente, se reinyectan en la cavidad peritoneal del ratón. Es fácil producir así líquido ascítico que contiene gran cantidad de AcMo y que puede colectarse para conseguir altas concentraciones de anticuerpos. Hoy en día se pueden preparar “a la orden”, para investigación o venta como herramienta diagnóstica. La tecnología de los hibridomas y anticuerpos monoclonales ha permitido estudiar los genes de inmunoglobulinas que codifican para los anticuerpos. Además, ha tenido grandes implicaciones como instrumento diagnóstico o terapéutico. La importancia de los anticuerpos monoclonales en la investigación respecto al cáncer es que pueden utilizarse como inmunotoxinas si se conjugan con toxinas de plantas o bacterias.

El anticuerpo monoclonal conjugado a la toxina se une a determinantes antigenicos tumorales. Las células tumorales incorporan este conjugado, y la toxina mata a la célula tumoral. Los anticuerpos monoclonales abren enormes perspectivas a la investigación básica y aplicada, agregando especificidad, sensibilidad y reproducibilidad, características que marcan la diferencia con los anticuerpos policlonales; de ahí que una de sus primeras aplicaciones prácticas haya sido en los ensayos de diagnóstico clínico de enfermedades infecciosas, parasitarias y tumores malignos en humanos y animales, y de enfermedades vegetales producidas por hongos, bacterias, virus y fitoplasmas. El gran rango de aplicaciones incluye nuevas terapias y procesos industriales que requieren la identificación y la purificación de productos naturales y contaminantes. Los anticuerpos monoclonales se usan, además, en la manipulación de la fisiología y bioquímica celulares, la definición de subpopulaciones celulares, la tipificación de antígenos de tejidos y de grupos sanguíneos, la detección de las concentraciones circulantes de hormonas y de otros factores séricos, la demostración de daños tisulares, la identificación de tóxicos, mutágenos y fármacos, el estudio de la respuesta inmunitaria, y en la fabricación de vacunas.³⁰

FACTOR DE TRANSFERENCIA LEUCOCITARIO

El factor de transferencia (FT) es un extracto leucocitario dializable con propiedades inmunopotenciadoras. Puede obtenerse mediante diversos métodos a partir de fuentes linfoides de humano y animal, incluidas las células de sangre periférica, del bazo, los ganglios linfáticos y el calostro. La primera descripción de los efectos inmunológicos del factor de transferencia la hicieron Lawrence y Pappenheimer en 1956, al descubrir que los leucocitos de la sangre periférica lisados de individuos que reaccionaban dérmicamente a un antígeno de la tuberculosis (PPD), al toxoide diftérico o a la proteína M del estreptococo, transferían dicha respuesta positiva a sujetos que no eran reactivos a esos antígenos. El factor de transferencia de Lawrence contiene al menos 200 moléculas diferentes con pesos moleculares de 1 a 20 kDa.

El factor de transferencia basa su actividad en la transmisión de inmunidad de un individuo sano (inmunocompetente) a uno inmunodeficiente, sin importar la especie a la que pertenezca. En otras palabras, un individuo que padezca tuberculosis puede aliviarse o incluso curarse si se administra factor de transferencia elaborado a partir de una persona o de un animal que se haya recuperado o que tenga inmunidad celular en contra de esa enfermedad. El factor de transferencia puede ser la solución para la prevención y tratamiento de muchos padecimientos en los que ha mostrado un efecto positivo, como: inmunodeficiencias adquiridas y genéticas, neoplasia, síndrome de choque séptico y muchas enfermedades de origen viral, fungico, bacteriano y micobacteriano, y las causadas por protozoarios; y en afecciones resistentes a la farmacopea actual, como la tuberculosis, y las ocasionadas por el virus de inmunodeficiencia humana y el Ébola.³¹⁻³⁶

El componente activo del extracto dializable de leucocitos se llama factor de transferencia; sin embargo, debido a que contiene varios cientos de porciones químicas, muchas de las cuales son muy activas biológicamente, ahora se prefiere el término “extracto dializable de leucocitos que contiene actividad de factor de transferencia”, que es una descripción más precisa de sus características.

El factor de transferencia carece de efectos secundarios, no es tóxico al organismo y puede administrarse por vía oral y parenteral.³¹⁻³⁶ Kirckpatrick y su grupo (1999) determinaron que es eficaz por vía oral, y resiste al medio ambiente enzimático y acídico del estómago.³² Se ha corro-

borado que induce mejoría en pacientes con padecimientos como: herpes, psoriasis vulgar, infección combinada de citomegalovirus-virus Epstein-Barr, coccidioidomicosis, candidiasis mucocutánea, infecciones virales en pacientes con SIDA, virus de la varicela zoster, virus de la estomatitis aftosa recurrente, síndrome de fatiga crónica, fibromialgia, carcinoma de pulmón, sarcoma osteogénico

no metastásico, papiloma laríngeo, *Mycoplasma pneumoniae*, tonsilitis habitual, meningitis supurativa, cistitis crónica, tuberculosis pulmonar, postulosis palmoplantar, sarcoidosis y diversas alergias, entre otros. Como puede verse, la versatilidad de la aplicación clínica del factor de transferencia lo hace un tratamiento de elección para la salud humana.

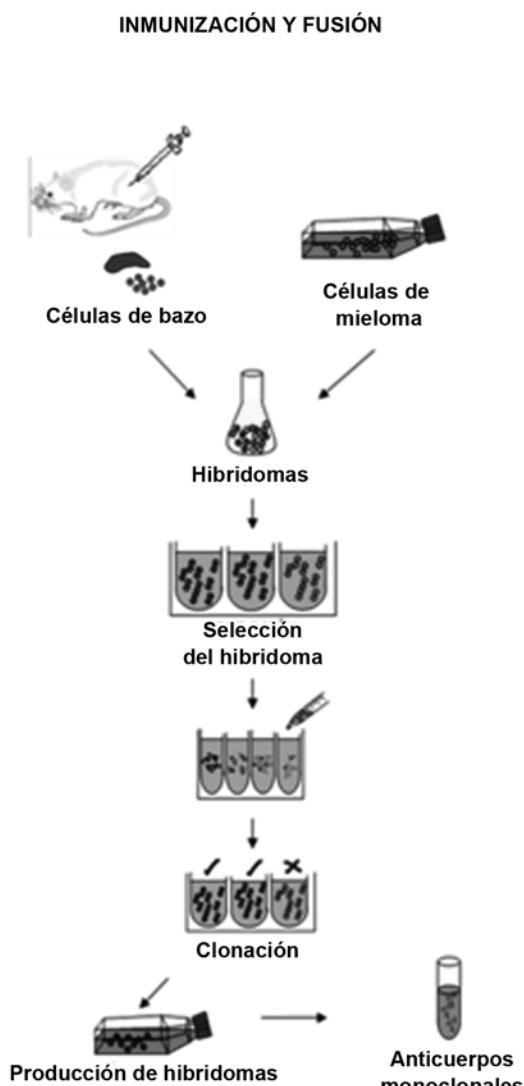


Figura 5. Producción de anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales derivan de los hibridomas que son células híbridas que resultan de la fusión de células de bazo y de un mieloma llamado también plasmacitoma. Los anticuerpos monoclonales tienen especificidad predefinida contra un solo epítope o determinante antigenico, a diferencia de los anticuerpos policlonales que incluyen múltiples anticuerpos y especificidades.

EXPRESIÓN DE VECTORES EN UN SISTEMA DE BACULOVIRUS (BEVS)

En la biotecnología el uso de virus entomopatógenos, especialmente de baculovirus, como bioinsecticidas, tuvo su mayor auge a partir de la década de 1970, después de que inició su producción *in vivo* en larvas de insectos susceptibles.³⁷ A fines del decenio de 1980, y con el avance de la biología molecular, se incrementó la utilización de sistemas de producción de baculovirus *in vitro*, debido a que no sólo generan bioinsecticidas,³⁸ sino también proteínas recombinantes para diferentes fines.^{39,40}

De forma general, esta tecnología se conoce como expresión de vectores en un sistema de baculovirus, o bien *Baculovirus Expression Vector System* (BEVS, por sus siglas en inglés). Este sistema fue patentado en 1988 para el control de plagas de insectos,⁴¹ pero al demostrarse que era seguro, abundante y producía grandes cantidades de proteína en corto tiempo, se modificó la secuencia genética de uno de los baculovirus totalmente conocidos, el nucleopoliedrovirus aislado de *Autographa californica*, *AcMNPV*, al cual se le reemplazó el gen que codifica para la proteína de la cubierta poliedrina por el gen que codifica para la proteína de interés.⁴²

En la actualidad los baculovirus se usan en la industria biotecnológica para la creación de miles de proteínas recombinantes, desde proteínas de unión a membranas hasta enzimas citosólicas.⁴³ Uno de los factores clave en esta tecnología es la selección adecuada de la línea celular de insectos en donde tendrá lugar la producción.⁴³ El sistema de baculovirus se ha convertido en una técnica básica en la elaboración de proteínas para fines farmacéuticos, tratamiento de enfermedades, fabricación de vacunas, etc., no sólo en líneas celulares de insectos, sino también de mamíferos e incluso de plantas (plantas transgénicas).⁴⁴ Los cultivos de líneas celulares de insecto para la expresión de proteínas tienen algunas ventajas frente a su producción por medio del sistema de cultivos con líneas

de células animales o para proteínas de importancia en medicina o veterinaria. En este sentido, los cultivos de líneas celulares de insectos: 1) pueden subcultivarse indefinidamente sin tener que transformarse; 2) crecen en una suspensión líquida sin necesidad de adherirse a un sustrato; 3) no propagan patógenos al hombre o a los animales, 4) los virus contienen promotores naturales que dan altos rendimientos de proteínas expresadas por esta técnica, y 5) frecuentemente los productos elaborados son biológicamente activos.³⁸

Cox (2004) hizo una comparación entre los *Baculovirus Expression Vector System* y otros sistemas (bacterias, levaduras, células de mamíferos, plantas y animales transgénicos) que se han utilizado para la producción de proteínas recombinantes con respecto a costo y velocidad de elaboración, problemas vinculados con glicosilación y plegamiento, y la factibilidad de ser autorizado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).⁴³ La comparación demostró que el sistema de baculovirus se encuentra en equilibrio en todas variables antes mencionadas.

Por estas razones, se usa en: 1) la clonación y expresión de genes para el estudio de la estructura proteínica;⁴⁵ 2) la producción de reactivos bioquímicos;⁴³ 3) estudios de regulación y expresión de genes;⁴⁶ 4) la exploración, producción y desarrollo comercial de vacunas para humanos y animales;^{47,48} pruebas de diagnóstico y tratamientos terapéuticos;⁴² 5) la investigación de nuevos medicamentos;⁴⁹ 6) diagnóstico de enfermedades;⁵⁰ y 7) por supuesto, para la investigación y la creación de nuevos bioinsecticidas seguros al ambiente y compatibles con la agricultura orgánica y el desarrollo sustentable de cultivos.³⁹

Es tal el efecto que ha tenido el sistema de baculovirus, que desde la década de 1990 se utiliza para la fabricación de vacunas contra enfermedades virales como la influenza, la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana (cuadro 1).⁴⁸

CONCLUSIONES

El origen de la biotecnología se remonta varios miles de años atrás, cuando el hombre aprendió a elaborar pan y

Cuadro 1. Expresión de vectores en un sistema de baculovirus (BEVS) para la fabricación de vacunas que se encuentran en fase de investigación preclínica^a

Enfermedad	Subunidad para la vacuna	Método de producción/tipo de baculovirus	Cepa o tipo del virus	Adyuvante o formulado	Estado de desarrollo
Hepatitis D	HDV	<i>In vitro</i> /normal	Hepatitis tipo D	ND	Básico
Virus de la influenza	HA	<i>In vitro</i> /normal	Influenza tipo HA	ND	Fase II
Virus de la influenza	Núcleo-proteína	<i>In vitro</i> /normal	Influenza tipo HA	ND	Fase I
SIDA	rgp160	<i>In vitro</i> /normal	VIH cepa LAI	Albúmina	Fase I-P Fase I-II-T PPC-AP
SIDA	rgp160	<i>In vitro</i> /normal	VIH cepa MN, Thai Clade E	Albúmina	PPC-AP, M
SIDA	rgp160 oligomérico	<i>In vitro</i> /normal	VIH cepa LAI	Albúmina/MPL/IFA	Fase I-P Fase I-T PPC-AP
SIDA	rp24	<i>In vivo</i> /normal	VIH cepa LAI	Albúmina	PPC-AP, M
SIDA	V3-HA	<i>In vitro</i> /recombinante	VIH cepa MN	Hemaglutinina del virus de la influenza	Fase I-T PPC-AP
SIDA	Partículas virales Gag-V3	<i>In vitro</i> /normal	VIH cepa LAI	ND	PPC-AP
SIDA	Partícula Gag P55	<i>In vitro</i> /normal	VIH cepa LAI	Albúmina	Básico

^aVIH, virus de inmunodeficiencia humana; LAI, grupo de aislados muy relacionados con el VIH, que incluye al LAV, IIIB, BH10 y BRU; P, pruebas para la prevención y profilaxis; T, pruebas terapéuticas en voluntarios enfermos; PPC, pruebas preclínicas; AP, animales pequeños; M, monos; MPL/IFA, emulsiones microfluidizables de aceite en agua. Adaptado de Gellin, 1998.⁴⁷

otros productos como queso, cerveza y vino. La biotecnología moderna permite al hombre no sólo utilizar las células u organismos que le ofrece la naturaleza, sino modificarlos y manipularlos en función de sus necesidades. Se aplica actualmente en muchas áreas, entre ellas la agricultura, la biorremediación, el procesamiento de alimentos y la generación de energía. Se ha logrado producir insulina y otros medicamentos mediante la clonación de vectores que llevan el gen seleccionado. Los inmunoanálisis, por su parte, no sólo se usan en medicina para medir las concentraciones de fármacos e identificar embarazos, sino también en la agricultura para detectar concentraciones peligrosas de pesticidas, herbicidas y toxinas en cultivos y productos animales. Además, las pruebas de tipificación del ADN se han convertido en una práctica común en la ciencia forense. En la agricultura, la ingeniería genética se aplica a la creación de plantas resistentes a insectos, hierbas y enfermedades.

Antes de la aparición de los métodos de ADN recombinante, los científicos se limitaban a técnicas como la polinización cruzada, la crianza selectiva, los pesticidas y los herbicidas. La biotecnología de hoy en día tiene sus raíces en la química, la física y la biología. El aumento en el desarrollo de técnicas ha generado tres ramas principales de la biotecnología: la ingeniería genética, las técnicas de diagnóstico y las técnicas de manipulación de células y tejidos. Con la biotecnología se han creado plantas que tienen un gen derivado de un patógeno humano (un plátano puede contener una vacuna barata, segura y efectiva contra la hepatitis B y otros padecimientos); los tejidos de la planta resultante acumulan una proteína antigénica que es codificada por el ADN del organismo patógeno. En estudios preclínicos, se ha encontrado que las proteínas antigénicas producidas en plantas transgénicas retienen sus propiedades immunogénicas al ser purificadas; si éstas se inyectan en ratones, el antígeno induce la elaboración de anticuerpos específicos.

A medida que nos aventuramos en la era de la biotecnología, se anticipa que la manipulación genética se convierta en una herramienta poderosa para mejorar la calidad de vida de los individuos. En este siglo van a ocurrir grandiosos descubrimientos biotecnológicos y genéticos que proveerán a la humanidad de nuevos beneficios, riesgos y costos, además de herramientas para la investigación y el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades. Se espera que las plantas alteradas genéticamente puedan

resistir plagas; que los animales modificados genéticamente produzcan grandes cantidades de medicamentos especiales, y que los humanos puedan ser tratados genéticamente para aliviar sus enfermedades; sin embargo, a pesar de todos los beneficios que la biotecnología pueda traer, existen prejuicios sobre si interfiere en forma adversa en la evolución humana y altera nuestros ecosistemas.

REFERENCIAS

1. Mason J. Challenges to the economic evaluation of new biotechnological interventions in healthcare. *PharmacoEconomics* 1999;16:119-25.
2. Petrov RV. Contribution of immunology to the development of biomedical disciplines. *Vestn Ross Akad Med Nauk* 1999;74:5-9.
3. Raychaudhuri S, Rock KL. Fully mobilizing host defense: building better vaccines. *Nat Biotechnol* 1998;16:1025-31.
4. Wheeler AP, Bernard GR. Applications of molecular biology and biotechnology: antibody therapy of sepsis. *J Crit Care* 1996;11:77-94.
5. Babiuk LA. Broadening the approaches to developing more effective vaccines. *Vaccine* 1999;17:1587-95.
6. Guillou PJ. Potential impact of immunobiotechnology on cancer therapy. *Br J Surg* 1987;74:705-10.
7. Herlyn D, Birebent B. Advances in cancer vaccine development. *Ann Med* 1999;31:66-78.
8. Tamez Guerra R, Gómez Flores R. Utilización de citocinas y liposomas como agentes antibacterianos. *Ciencia UANL* 1998;1:99-109.
9. Trebak M, Chong JM, Herlyn D, Speicher DW. Efficient laboratory-scale production of monoclonal antibodies using membrane-based high-density cell culture technology. *J Immunol Methods* 1999;230:59-70.
10. Fundación OPTI. Impacto de la biotecnología en los sectores industrial y energético. Informe de prospectiva tecnológica. Madrid: Genoma, Sector Industrial y Energético, 2006;pp:1-67.
11. Academia Mexicana de Ciencias. Información básica sobre biotecnología. Coordinación de Comunicación y Divulgación, 2008.
12. Bolívar F. Biotecnología moderna para el desarrollo de México en el siglo XXI. Retos y oportunidades. México: Fondo de Cultura Económica, 2002;pp:1-339.
13. Gomez-Flores R, Tucker SD, Kansal R, Tamez-Guerra R, Mehta RT. Enhancement of antibacterial activity of clofazimine against *Mycobacterium avium-M. intracellulare* complex infection induced by IFN- γ is mediated by TNF-a. *J Antimicrob Chemother* 1997a;39:189-97.
14. Gomez Flores R, Rodriguez Padilla C, Mehta RT, Galan Wong L, Mendoza E, Tamez Guerra R. Nitric oxide and TNF-a production by murine peritoneal macrophages activated with a novel 20-kDa protein isolated from *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* parasporal bodies. *J Immunol* 1997b;158:3796-9.
15. Gomez Flores R, Weber RJ. Inhibition of IL-2 production and down regulation of IL-2 and transferrin receptors on rat splenic lymphocytes following PAG morphine administration:

- a role in NK and T cell suppression. *J Interferon Cytokine Res* 1999;19:625-30.
16. Gomez Flores R, Jin Liang S, Weber RJ. Suppression of splenic macrophage functions after acute morphine action in the rat mesencephalon periaqueductal gray. *Brain Behav Immun* 1999;13:212-24.
 17. Fári MG, Kralovánszky UP. The founding father of biotechnology: Károly (Karl) Ereky. *Int J Hort Sci* 2006;12:9-12.
 18. Fumento M. Bioevolution. How biotechnology is changing our world. San Francisco: Encounter Books, 2003;pp:1-532.
 19. Cohen SN, Chang AC, Boyer HW, Helling RB. Construction of biologically functional bacterial plasmids *in vitro*. *Biotechnology* 1992;24:188-92.
 20. Lossing AG, Hatswell EM, Wright JG, Hu Z, MacLeod R. Diagnostic test studies: biotechnology assessment. *Surgery* 1996;120:1-6.
 21. Barinaga MA. Personal technology transfer effort in DNA. *Science* 1994;266:1317-8.
 22. Belgrader P, Bennett W, Hadley D, Richards J, et al. Detection of bacteria in seven minutes. *Science* 1999;284:449-50.
 23. Avallone HL, Beatrice MG, Sze TT. Food and Drug Administration inspection and licensing of manufacturing facilities. *Drug Biotechnology Regulation*. *Bioprocess Technol* 1991;315-40.
 24. Ada G. Overview of vaccines. *Mol Biotechnol* 1997;8:123-34.
 25. Lu S, Wang S, Grimes Serrano JM. Current progress of DNA vaccine studies in humans. *Expert Rev Vaccines* 2008;7:175-91.
 26. Ramírez Pfeiffer C, Díaz Aparicio E, Gomez Flores R, Rodríguez Padilla C, et al. A rapid, simple and specific fluorescence polarization assay to diagnose goat brucellosis using the *Brucella melitensis* native hapten. *Clin Vaccine Immunol* 2008;[Epub ahead of print].
 27. Ramírez Pfeiffer C, Nielsen K, Marin Ricalde F, Rodríguez Padilla C, Gomez Flores R. Comparison of fluorescence polarization assay with card and complement fixation tests for the diagnosis of goat brucellosis in a high-prevalence area. *Vet Immunol Immunopathol* 2006;110:121-7.
 28. Hendriksen CF, de Leeuw WA. *In vivo* and *in vitro* production of monoclonal antibodies: current possibilities and future perspectives. *Res Immunol* 1998;149:611-20.
 29. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495-8.
 30. Reichert JM. Monoclonal antibodies in the clinic. *Nat Biotechnol* 2001;19:819-22.
 31. Kirkpatrick HC. Transfer Factor. *J. Allergy Clin Immunol* 1998;81:803-13.
 32. Kirkpatrick CH, McDermott MJ, Eisenberg SP. Characterization of transfer factors and methods of use. United States Patent No. 5,883,224, 1999.
 33. Lawrence HS, Borkowsky W. A new basis for the immunoregulatory activities of transfer factor-An arcane dialect in the language of cells. *Cell Immunol* 1983;82:102-16.
 34. Borkowsky W, Lawrence HS. Effects of human leucocyte dialysates containing transfer factor in the direct leucocyte migration inhibition (LMI) assay. *J Immunol* 1979;123:1741-7.
 35. Viza D, Phillips J, Rosenfield F. Orally administered specific transfer factor for the treatment of herpes infections. *Lymphok Res* 1985;4:1.
 36. Akashi K, Shigenori T, Yasuto O, Hideo Y, Masayoshi T. Clinical use of leukocyte dialysate (transfer factor) in Osaka area of Japan. In: Kirkpatrick CH, Burger DR, Lawrence HS, editors. *Immunobiology of Transference Factor*. New York: Academic Press, 1983;pp:279-91.
 37. Shapiro M. *In vivo* mass production of insect virus for use as pesticides. In: Kurstak E, editor. *Microbial and viral pesticides*. New York: Dekker, 1982;pp:463-93.
 38. Behle RW, Tamez Guerra P. Sistemas de producción de baculovirus del tipo poliedro nucleares. En: Galán-Wong LJ, Elías-Santos M, Tamez-Guerra P, Quintero-Ramírez R, Quintero-Zapata I, editores. *Procesos biotecnológicos*. Monterrey: Publicaciones UANL, 2003;pp:86-108.
 39. Shuler ML, Cho T, Wickham T, et al. Bioreactor development for production of viral pesticides or heterologous proteins in insect cell cultures. *Ann NY Acad Sci* 1990;589:399-422.
 40. Iatrou K, Farrell PJ, Hashimoto Y. Use of BVACs (BaculoVirus artificial chromosomes) to produce recombinant proteins. US Patent 6,090,584, 2000.
 41. Summers MD. Methods for producing a recombinant baculovirus expression system. US Patent 4,745,051, 1988.
 42. Luckow VA, Summers MD. Trends in the development of baculovirus expression vectors. *Bio/Technology* 1988;6:47-55.
 43. Cox MMJ. Commercial production in insect cells: One company's perspective. *BioProcess Int* 2004;1:1-5.
 44. Dus-Santos MJ, Wigdorovitz A. Expresión de antígenos del virus de la fiebre aftosa en plantas transgénicas. *Rev Sci Tech* 2005;24:17587.
 45. Fan H, Pan Y, Fang L, Wong D, et al. Construction and immunogenicity of recombinant pseudotype baculovirus expressing the capsid protein of porcine circovirus type 2 in mice. *J Virol Methods* 2008;150(1-2):21-26.
 46. Li S, Song KS, Koh SS, Kikuchi A, Lisanti MP. Baculovirus-based expression of mammalian caveolin in sf21 insect cells: A model system for the biochemical and morphological study of caveolae biogenesis. *Biochem Mol Biol Int* 1996;271:28647-54.
 47. Chang S, Kramer K, Gosnell W, Nishimura T. Baculovirus produced *Plasmodium falciparum* vaccine. US Patent 7,285,274, 2007.
 48. Gellin B. The Jordan Report 98: Accelerated development of vaccines. Division of Microbiology and Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases. EU: National Institutes of Health, 1998;pp:95-113.
 49. Kost TA, Condreay JP, Jarvis DL. Baculovirus as versatile vectors for protein expression in insect and mammalian cells. *Nat Biotechnol* 2005;23:567-75.
 50. He Q, Manopo I, Lu L, Leung B, et al. Novel immune-fluorescence assay using recombinant nucleocapsid-spike fusion protein as antigen to detect antibodies against severe acute respiratory syndrome *coronaviridae*. *Clin Diag Lab Immunol* 2005;12:321-8.