

## Transformación generacional de la investigación biomédica

*There is a tide in the affairs of men,  
Which taken at the flood, leads on to fortune;  
Omitted, all the voyage of their life  
Is bound in shallows and in miseries.*

Existe una marea en los asuntos humanos que,  
Tomada en pleamar, conduce a la fortuna; pero,  
Omitida, todo el viaje de la vida va circuido  
De escollos y desgracias

**William Shakespeare**  
*Julius Cesar, Act 4, Sc 3*

Una de las pocas ventajas de haber alcanzado los ochenta años es la posibilidad de echar una mirada retrospectiva y de hacer comparaciones que abarquen cuatro generaciones. Por ejemplo, ¿qué significaba hacer investigación en el contexto de los tiempos de mis maestros (generación de mi padre), en los tiempos míos, en los de mis discípulos (o mis hijos), de sus becarios (o mis nietos) y qué les espera a mis bisnietos y futuros investigadores? No deja de ser un interesante esfuerzo de memoria seguido de proyección hacia el futuro.

En la generación de los que fueron mis maestros, alrededor de 1930 a 1955 (fechas aproximadas basadas en que una generación es de 25 años para los genetistas de población), se hacía investigación biomédica en el animal entero y vivo, vale decir, *in vivo*. Era el modelo "extirpación-extracto", sacar una glándula y recomponerla con su hormona. Así Bernardo Houssay sacaba el páncreas de un perro –que desarrollaba diabetes– y lo recomponía con insulina; pero también podía impedir la aparición de diabetes al sacarle el lóbulo anterior de la hipófisis. El llamado "perro de Houssay", sin páncreas y sin hipófisis, le valió el Premio Nobel: demostraba que hacía falta la hipófisis para desarrollar una diabetes. Así mismo, C.N.H. Long, otro de mis maestros, pudo demostrar que la suprarrenal era necesaria para el desarrollo de la diabetes: el "perro de Long" era pancreatoprivo y adrenalectomizado y no desarrollaba diabetes, experimento controvertido en su tiempo<sup>1,2</sup>.

Por su lado, Hans Selye –mi primer director de investigación, conocido como el "genio del stress"– demostró que cualquier agente estresante despertaba una "reacción de alarma" que dependía de la elaboración de corticoides por la glándula suprarrenal; al extirparla, no se producía tal reacción y se recomponía el fenómeno al administrar extractos de suprarrenal, es decir, corticoides<sup>3,4</sup>.

Viene al caso recordar también los experimentos de otro de mis maestros, Alejandro Lipschütz, de Santiago de Chile, quien demostró que en el cobayo la administración de estrógenos induce una fibromatogénesis retroperitoneal que puede ser inhibida por la progesterona: vale decir, administrar una hormona y contrarrestar su efecto con otra hormona<sup>5</sup>. Esta era la forma de hacer investigación biomédica como la conocí durante mi formación.

¿Cuál fue el estilo de mi época, cuando hice experimentos y tuve becarios, alrededor de 1955-1980? Fiel a mi formación, insistí en experimentos *in vivo*: instalamos un bioterio de ratones y diseñamos experimentos de "larga-latencia", que abarcaban la vida entera del ratón, de 12 a 18 meses. Esto nos permitió descubrir, por ejemplo, que la administración prolongada de progesterona era capaz de inducir

cáncer de mama con una latencia promedio de un año<sup>6</sup>. Estos resultados, y otros conseguidos a lo largo de la vida del ratón, no se hubieran podido obtener en otros países donde los experimentos en animales son siempre de corta duración, principalmente por el alto costo de su mantenimiento en el laboratorio. Pero, al mismo tiempo que los experimentos *in vivo*, incorporamos las líneas celulares, los experimentos *in vitro*. Pasamos de estudiar las glándulas a estudiar las células y esto marcó la época, fue la moda del momento. Apareció la inmunofluorescencia, la histoquímica y el microscopio electrónico. Esta modalidad nos dio importantes resultados en estudios de onco-inmunología. Pudimos descubrir, por ejemplo, que los linfocitos tenían un efecto bi-modal frente a un tumor en desarrollo, entre otras muchas observaciones a lo largo de esos años, marcadas por estudios *in vitro*, a nivel de "células"<sup>7, 8</sup>.

Y ahora llegamos a la generación de mis hijos, mejor dicho de mis discípulos, alrededor de 1980-2005. Allí irrumpió la biología molecular, y entró con furor; era una nueva herramienta, mucho más sofisticada y que permitía estudios de ingeniería genética. Pasamos de la célula a los genes, a hablar de plásmidos, oncogen, gen supresor de tumor, cromosoma Filadelfia, etc. Como ejemplo, estas nuevas herramientas nos permitieron elucidar el mecanismo por el cual el retrovirus murino MMTV (*murine mammary tumor virus*) a través de un superantígeno es capaz de dirigir la ontogenia inmunológica<sup>9</sup>. También nos encandilamos con la cascada de mutaciones génicas supuestamente responsable de la transformación de una célula normal en neoplásica, según el modelo de Vogelstein<sup>10</sup>. Las herramientas necesarias para conseguir resultados se sofisticaron: introducimos el PCR (*polymerase chain reaction*), los *primers*, la citofluometría, etc. Cuando se obtuvo ADN recombinante, los investigadores se asustaron por miedo a "inventar monstruos" y en la Conferencia de Asilomar en 1975 pidieron una moratoria hasta proponer reglas, las que se confeccionaron y presentaron un año después. Felizmente, no hubo tal peligro y se prepararon versiones recombinantes de insulina, hormona de crecimiento, FVIII, etc., que perfeccionaron los tratamientos. Por otra parte, se consiguió eliminar genes para fabricar ratones *knockout* y añadirlos en ratones *knockin*. Se desarrolló la fertilidad asistida y se llegó a la clonación de la oveja Dolly. Luego, con el uso del secuenciador automático se descifró el mapa del genoma humano y se determinó que contiene un total de 25 000 genes, considerablemente menos de lo calculado anteriormente.

Después de tantos descubrimientos en biotecnología en tan poco tiempo, el futuro de mis bisnietos o de la nueva generación de investigadores, los del 2005 al 2030 –para cerrar el ciclo centenario– nos promete más maravillas todavía. Parecería que la ingeniería genética ha quedado en el pasado y que asoma la biología sintética e ingeniería proteica (*DNA synthesis - protein engineering*): que, por ejemplo, es capaz de preparar un virus desde segmentos de ADN o ARN. Esto es posible con el uso de las computadoras cada vez más perfeccionadas. Estas, con su gran poder de cálculo, han permitido simular las moléculas de ADN para construir genes<sup>11</sup>. Recientemente se ha conseguido reemplazar el genoma de una bacteria con un genoma enteramente sintético, un trasplante que convierte una especie en otra<sup>12</sup>. De nuevo, se empieza a recordar la conferencia de Asilomar ¿hasta dónde nos llevará todo eso y cuál es el peligro?

A pesar de adelantos tecnológicos tales como la nanotecnología, la biología sintética y la simulación química, no se han olvidado a las células, ya que están "de moda" las *stem cells* o células madre, multipotenciales o progenitoras, las que estarían en el origen de las células neoplásicas en algunos tumores<sup>13</sup>.

Es obvio que nunca debe perderse de vista que el cuerpo humano es un sistema muy complejo y no solamente una sumatoria de células y moléculas, razón por la cual se deben continuar con los experimentos *in vivo*, cerrando así, virtualmente, el círculo centenario que acabamos de describir.

- - -

En segundo término –y haciendo un salto atrás– en la época de mi formación con Houssay, recuerdo que cuando conocí a Eduardo Braun Menéndez, él me recalcó que era conveniente que un becario – como yo lo era en ese momento– distribuyera su tiempo, casi por igual, entre hacer investigación *on the bench*, sobre la mesada de mármol –característica del Instituto de Fisiología de aquel entonces– y estudiar en la biblioteca. ¿Cómo era la biblioteca “del entresuelo” en aquel entonces? Me llamaba la atención que contenía todas las revistas biomédicas que Houssay consultaba y eran las mismas que las del laboratorio de Hans Selye en Canadá. Ambos fichaban los artículos que les interesaban y además pedían separatas a los respectivos autores. Estos, a su vez, mandaban sus separatas con una tarjeta de visita a varios sitios según una larga lista preparada anteriormente –era la moda del momento. Houssay era reconocido por su memoria proverbial, se acordaba de cada publicación que uno le mencionaba y tenía un fichero con tarjetas por tema que le armaba su señora en la casa. Selye, a su vez, tenía un complejo sistema de clasificación de fichas con siglas y acumuló una importante biblioteca de separatas. Se escribía a mano en aquel entonces. Selye era más original: dictaba sus manuscritos y si bien usaba un grabador, la mayor parte de las veces dictaba a sus cinco secretarías a la vez, las que usaban un particular sistema de taquigrafía para luego pasar las siglas a la rudimentaria máquina de escribir<sup>4</sup>. Yo escribí mi tesis a mano y una secretaria la pasó a máquina haciendo siete copias mediante papel carbónico.

Cuando llegó la época mía ya habíamos aprendido a escribir a máquina y mis becarios me pedían que limitara las correcciones a lo mínimo porque luego había que reescribir toda la hoja. En esa época, llegaron las fotocopiadoras y se pudieron hacer copias de los artículos de las revistas, las que poco a poco reemplazaron a las separatas. Lo cuenta con mucho acierto Alejandro Mayer al recordar su paso por nuestro laboratorio:

“Es interesante comparar el trabajo que debía enfrentar un doctorando de los años 70 con el que se vive en la primera década del siglo XXI. En aquella época anterior a la computadora y el *Internet* era muy laborioso efectuar búsquedas bibliográficas, y aún más difícil obtener los artículos científicos para poder redactar los trabajos de investigación, y en mi caso particular, la tesis de doctorado. Recuerdo en particular qué importante fue obtener una beca de la Unión Internacional del Cáncer, que me permitió pasar un largo mes en Londres en el Chester Beatty Hospital durante 1976, participando de un curso internacional para jóvenes investigadores en cáncer. No sólo fue muy importante esta experiencia por el curso en sí que tuvo lugar en este renombrado instituto de investigación en cáncer, sino porque me permitió fotocopiar decenas de artículos de revistas científicas en la completísima biblioteca de esa institución, que era difícil o casi imposible para mí localizar en Buenos Aires a mediados de los años 70. La caja con las fotocopias de docenas de artículos con la cual regresé a Buenos Aires, constituyeron un tesoro difícil de valorar hoy en día, cuando el *internet*, las copias en *Word* o *pdf* hacen tanto más fácil el trabajo bibliográfico para los doctorandos del siglo XXI”.

En nuestros laboratorios fue alrededor de 1985 que la computadora reemplazó a la máquina de escribir, casi de un día para otro. Significó un gran alivio: se podía borrar, se podía trasladar una frase de un lado a otro, etc. Estábamos fascinados...

Desde entonces las computadoras o PC fueron perfeccionándose cada vez más. Llegó el *Internet*, los artículos *on-line* y, en una palabra, cambió la forma de llegar a la bibliografía científica: los adelantos se sucedieron en forma logarítmica más que aritmética. Hoy cada becario e investigador tiene acceso a una PC en el laboratorio y la mayor parte de las veces a otra en su casa, la que suele ser una *laptop* o *notebook*. Transporta su material para el *paper* (terminología actual para el manuscrito) de un lado a otro con un disquete que pasó a ser un CD, y que en la versión más moderna es un minúsculo *pen-drive* o en la versión más moderna aún, un *Data Traveler* con conexión retráctil. Se habla de simposios médicos en forma virtual con conexión entre diversos países y en distintos idiomas. Todo un mundo de la comunicación nuevo.

¿Cómo llegó esta transformación *virtual* a las bibliotecas? La majestuosa biblioteca de la Academia Nacional de Medicina, antes llena de estudiantes y de investigadores que buscaban información en su importante colección de revistas médicas –156 títulos en sus mejores tiempos– hoy se encuentra con un vacío que da pena. Su colección de revistas “en papel” ha bajado a sólo 23; el resto de la colección está *on-line*. Esto fue el resultado de una jugada “interesante” –por falta de un calificativo mejor– de las Grandes Editoriales: hace tres años, ofrecieron el “paquete” de lo que teníamos en papel con una rebaja del 75% para el mismo “paquete” *on-line*. Un año después dicho paquete “virtual” valía lo mismo que “en papel”, pero ya las colecciones se encontraban truncadas y la biblioteca se quedó *on-line*, ofreciendo dos computadoras para el público consultante. En consecuencia, tampoco se hacen copias y las máquinas fotocopadoras han perdido la mayoría de sus usuarios. Los jóvenes están encantados de leer todo en su monitor, de poder trabajar en su casa ya que transportan todo su material en uso de un lado a otro con una tecnología cada vez más perfeccionada; incluso se habla de que el “celular” llegará a superar a la PC en temas de comunicación virtual.

Frente a tantas transformaciones positivas en tan poco tiempo, los de mi generación no sólo tienen dificultad en adaptarse a tal vertiginosidad de cambios sino que le ven algunos aspectos negativos. En el laboratorio, se ha perdido mucho del cálido contacto humano becario-director; muchas veces uno de los dos se queda en casa donde transporta todo lo que necesita para escribir su *paper*, sin contar las distracciones que le ofrece su PC super-moderna. Por otro lado, añoramos la biblioteca llena de revistas en papel.

Es difícil predecir el futuro “del papel”. Las revistas están casi todas *on-line* tanto para recibir los manuscritos como para evaluarlos e incorporar al número correspondiente, con un costo apreciable para los autores. El precio para acceder a ellas seguramente irá en aumento, ya que las Grandes Editoriales buscarán la forma de mantener su negocio. Sin embargo, personalmente añoro el papel, y espero que sigan existiendo libros y revistas en papel y que eso no sea sólo *wishful thinking*, lo que uno quisiera...

*Christiane Dosne Pasqualini*

Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

e-mail: chdosne@hotmail.com

- Pasqualini CD. Las investigaciones de Houssay que motivaron el Premio Nobel. Colección Academia Nacional de Medicina, Volumen VII, 1997, pp 17-28.
- Barrios Medina A, Paladini AC. Escritos y discursos del Dr. Bernardo A. Houssay. Buenos Aires: EUDEBA, 1989, pp 158-69.
- Pasqualini CD, Pasqualini RQ. Hans Selye: el Stress de su vida. *Medicina (Buenos Aires)* 1983; 43: 109-11.
- Selye H. From dream to discovery. On being a scientist. New York: McGraw-Hill, 1964, 419 pp
- Dosne C. Inactivation of antifibromatogenic substances (progesterone and desoxycorticosterone acetate) in liver. *Cancer Res* 1944; 4: 1512-4.
- Lanari C, Molinolo AA, Pasqualini CD. Induction of mammary adenocarcinomas by medroxyprogesterone acetate in BALB/c mice. *Cancer Lett* 1986; 33: 215-23.
- Pasqualini CD. Cuatro décadas de oncoimmunología experimental. *Bol Acad Nac Med* 1998; 76: 429-44.
- Pasqualini CD, Ruggiero RA, Bustuabad OD, Nepomnaschy I, Piazzon I. Experimental Onco-Immunology revisited. *Current Cancer Therapy Reviews CCTR* 2005; 1, 289-98.
- Piazzon I, Goldman A, Torello S, Nepomnaschy I, Derocche A, Dran G. Transmission of an Mls-1a-like superantigen to BALB/c mice by foster-nursing on F1 Mls-1bxa mothers. Sex-influenced onset of clonal deletion. *J Immunol.* 1994; 153: 1553-62.
- Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nature Med* 2004; 10: 789-99.
- Ball P. Starting from scratch. *Nature* 2004; 431: 624-6.
- Ball P. Designs for life. *Nature* 2007; 448: 32-3.
- Marx J. Bone marrow cells: the source of gastric cancer? *Science* 2004; 306: 1455-6.