

## Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2007

### Diseñando genomas de ratón

En el año 2001, en oportunidad de presentar a quienes se habían hecho acreedores al premio que otorga la Fundación Lasker de los Estados Unidos de América, considerado antesala obligada al Premio Nobel, Joseph Goldstein, que obtuvo ambos galardones, comentó que “a diferencia de la matemática y la física, la biología y la medicina son ciencias empíricas. Al carecer de grandes teorías unificadoras que guíen los experimentos, los avances conceptuales en las ciencias biomédicas dependen de manera crucial de las innovaciones tecnológicas.” Citó, entre algunos ejemplos, al corazón-pulmón artificial que hizo posible la cirugía cardíaca, la angiografía coronaria que condujo al diseño del puente aorto-coronario y la inmunosupresión, que inició la era del trasplante de órganos.

Los científicos a quienes se refería Goldstein en la reunión celebrada en Nueva York, pocas semanas después del ataque a las Torres Gemelas, son los mismos que el Comité Nobel del Instituto Karolinska de Estocolmo, Suecia, ha seleccionado para recibir el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2007: el italiano Mario Capecchi de la Universidad de Utah, EE.UU. y los británicos Martin Evans de la Universidad de Cardiff, Reino Unido y Oliver Smithies quien trabaja en la Universidad de Carolina del Norte, Chapel Hill, EE.UU. Los estudios reconocidos con la distinción fueron realizados durante la década de 1980 y culminaron en 1989 con la obtención de ratones modificados genéticamente. Estas investigaciones representan para la biomedicina un progreso cuya trascendencia es similar a la de los avances mencionados más arriba. Esta tecnología ha hecho posible manipular, de una manera muy selectiva, las instrucciones genéticas contenidas en el ácido desoxirribonucleico (ADN) de las células del ratón. Mediante estos procedimientos ha resultado posible crear “ratones de diseño” en los que prácticamente cualquiera de sus más de 20 000 genes puede ser alterado selectivamente. Estos ratones transgénicos adquieren características que no sólo hacen posible precisar la función de cada uno de los genes modificados, sino que reproducen muchas enfermedades que afectan al ser humano, permitiendo estudiar los caracteres de la afección y analizar el efecto de diversos tratamientos.

Entre las consideraciones mediante las que justifica el otorgamiento del premio, la Asamblea Nobel del Instituto Karolinska asigna especial importancia al descubrimiento de “los principios que permiten la introducción de modificaciones específicas en genes de ratones mediante el empleo de células madres embrionarias.” Se trata de un avance cuya importancia fue advertida rápidamente por la comunidad científica ya que les ha valido a los tres científicos prestigiosas distinciones en todo el mundo. En realidad, es el resultado de la conjunción de dos poderosas tecnologías desarrolladas durante la década de 1980. Sir Martin Evans –nacido en Gloucestershire, Reino Unido en 1941 y que en ese momento trabajaba en Cambridge– identificó y aisló las células madres de embriones de ratón en estadios precoces. Estas son las precursoras de todas las demás células del organismo ya que no sólo se autorenewan sino que son capaces de dar origen a un embrión completo. Evans logró aislar esas células, cultivarlas *in vitro*, manipular su material genético y, luego de combinarlas con células de un embrión normal, implantarlas en una madre sustituta para dar así origen a un nuevo individuo genéticamente modificado. Los cambios producidos en el laboratorio son de esta manera transmitidos a las nuevas generaciones porque están presentes en las células germinales. La obtención de individuos cuyas células poseen genes mutados, es decir, con instrucciones genéticas modificadas experimentalmente, demostró ser el paso decisivo en este desarrollo.

Mientras tanto, Mario Capecchi y Oliver Smithies buscaban el modo de alterar específicamente el genoma de los mamíferos, Capecchi con la idea de insertar nuevos genes en las células y Smithies con la esperanza de corregir los defectos genéticos que producen enfermedades. De manera independiente, encontraron el modo de utilizar la recombinación homóloga de segmentos de la molécula de ADN para identificar genes en el genoma de mamíferos y desarrollaron métodos que abrieron el camino para la obtención de ratones genéticamente modificados. No fue este un camino sencillo y en las instancias iniciales sus propuestas fueron recibidas con escepticismo y no contaron con el apoyo de las agencias que financian la investigación científica. Marcar esos genes supone, en primer lugar, identificarlos y luego manipularlos. Hoy resulta factible hacerlo en el ratón hasta un nivel comparable al que se realiza en organismos mucho más sencillos como las bacterias y los hongos. El procedimiento diseñado por Capecchi y Smithies resultó ser muy original. Aunque se trata de una manipulación compleja, en esencia, permite producir la modificación deseada de manera muy precisa en un gen determinado de los más de 20 000 que contiene el ADN de una célula madre embrionaria del ratón, es decir, las células cultivadas de acuerdo con el procedimiento descrito por Evans y arriba reseñado.

En sus experimentos utilizando timidina quinasa, Capecchi demostró que era posible lograr el intercambio de segmentos de ADN portadores de la información genética necesaria para sintetizar esa proteína en células que carecían de ella. Ese intercambio tenía lugar entre el ADN introducido en la célula y el ADN propio de esta, como consecuencia del proceso de "recombinación homóloga", similar al que se produce normalmente entre los genes de los cromosomas homólogos durante la meiosis. Las características moleculares de este proceso de recombinación entre genes homólogos fueron descritas por el Premio Nobel Joshua Lederberg en 1958 utilizando bacterias. Por su lado, los experimentos de Smithies sugirieron que los genes propios de la célula podían ser seleccionados independientemente de la actividad que desarrollaran, es decir, que esta recombinación homóloga tenía alcances generales. Este procedimiento de recombinación homóloga de segmentos de ADN, unido al método de aislamiento y manipulación de las células madres embrionarias descrito por Evans, al cabo del proceso apropiado para seleccionar las células con la modificación deseada, permitió producir en 1989 ratones "noqueados" (*knock-out*). Esta denominación surgió del hecho de que un gen específico no puede expresarse porque ha sido inactivado, puesto fuera de juego. Es como si en un motor se quitara una pieza a elección y se analizara el efecto que esto tiene en su funcionamiento. Posteriormente también resultó posible agregar piezas y analizar los resultados (ratones *knock-in*).

El desarrollo de los cultivos de las células madres embrionarias, la demostración que esas modificaciones genéticas pueden transmitirse a las células de la línea germinal y manifestarse en la descendencia, la observación que la recombinación genética se produce con alta frecuencia en el genoma de los mamíferos, la aplicación de métodos de transferencia genética a las células madres embrionarias y el diseño de estrategias para seleccionar las células así alteradas, fueron los distintos elementos que permitieron armar el rompecabezas que condujo a la producción de cepas de ratones genéticamente modificados, los conocidos como "ratones de diseño".

Previamente a la modificación genética en ratones, nuestra comprensión de la función de los genes en los organismos superiores solo podía ser deducida de las observaciones realizadas a propósito de mutaciones espontáneas en pacientes y en animales de experimentación, estudios de asociación, administración de productos génicos a los animales y, en alguna medida, mediante experimentos en cultivos celulares. Pero los hallazgos comentados iniciaron una nueva era en la investigación biomédica contemporánea porque resultó posible analizar experimentalmente las hipótesis vinculadas con la función de prácticamente cada uno de los genes. Puesto que los ratones comparten un 95% de sus genes con los seres humanos –de allí que se los considere "seres humanos de bolsillo"– ha resultado posible crear modelos experimentales de numerosas enfermedades que afectan al ser humano. Pueden mencionarse, entre otras, afecciones cardiovasculares y neurodegenerativas, diabetes y cáncer, lo que cons-

tituye un avance trascendental en el progreso del conocimiento de su mecanismo de producción y una herramienta muy apropiada para la investigación de posibles tratamientos. La industria biotecnológica ha basado gran parte de su progreso en este avance, hoy una tecnología corriente en laboratorios de investigación de todo el mundo. Casi todos los aspectos del desarrollo, la fisiología y la patología de los mamíferos pueden ser estudiados mediante las técnicas de identificación de genes.

En una oportunidad reciente, refiriéndose a él y a sus colegas, Smithies –nacido en Halifax, Inglaterra en 1925– dijo: “Los inventores de herramientas somos personas afortunadas. Advertimos los problemas, inventamos herramientas para resolverlos y disfrutamos de las soluciones que, a menudo, descubren nuevos principios que no estaban incluidos en la concepción original. Además, disfrutamos del placer de ver a otras personas utilizar esas mismas herramientas para resolver problemas muy diferentes.” Señalaba también que esa invención no constituye un hecho aislado sino que se basa en experiencias previas que ponen en marcha la inventiva.

La historia personal de Mario Capecchi, nacido en Verona, Italia en 1937, proporcionaría material para una saga apasionante ya que, entre los cuatro y los nueve años de edad, durante la Segunda Guerra Mundial deambuló por calles y orfanatos de su país. Luego de reencontrarse milagrosamente con su madre, que había sido deportada al campo de concentración de Dachau, emigró a los EE.UU. donde, a pesar de arribar carente de toda educación formal, llegó a trabajar con James Watson, responsable junto con Francis Crick de descifrar la estructura de la molécula del ADN. “Lo que he aprendido –dijo– es que no es posible predecir de donde surgirán las cosas. Lo importante es darle la oportunidad a cada uno de hacer lo mejor que pueda. Sólo así lograremos mirar con esperanza el futuro”. Reflexionando sobre sus hallazgos, señaló que “el uso de estas tecnologías permitirá el descubrimiento de los componentes esenciales que subyacen en fenómenos biológicos muy complejos como las funciones cognitivas superiores. La transformación de la práctica médica que resultará de la aplicación a la clínica de estos nuevos conocimientos, hará que la medicina del futuro sea irreconocible cuando se la compare con la actual”.

Durante la conferencia Nobel que pronuncian los galardonados en Estocolmo antes de recibir la distinción, Evans enumeró los beneficios potenciales de la aplicación de estas técnicas como, por ejemplo, la reparación de los tejidos. Pero sus últimas palabras fueron una advertencia muy apropiada ante los jóvenes estudiantes que colmaban el auditorio. Dijo: “No favorecemos a nuestra actividad cuando ponemos el énfasis en sus consecuencias prácticas. No somos simples técnicos. Somos pescadores y exploradores que, en nuestro intento de comprender los mecanismos que controlan a los seres vivos, incluyendo los aspectos biológicos de nuestra propia vida, no lo hacemos guiados sólo por consideraciones prácticas, sino por ese afán intelectual de saber, que es el que caracteriza y define la aventura humana”.

Y haciendo referencia a las conferencias Nobel, resulta inevitable mencionar el estilo impar de la presentación de Oliver Smithies, titulada “Dando vuelta las páginas”, quien se centró en la exhibición de hojas extraídas de sus cuadernos de laboratorio. No dejó de señalar un experimento realizado un primero de enero, otro un sábado, un tercero hace pocas semanas para destacar la importancia de trabajar, de trabajar siempre, inclusive a sus 82 años. Concluyó su presentación citando un párrafo de su profesor de Bioquímica en Oxford, Alexander (Sandy) Ogston quien en 1970 dijo: “Porque la ciencia es más que la búsqueda de la verdad, más que un juego desafiante, más que una profesión. Es una vida que personas muy diversas transitan juntas, en la más cercana proximidad, una escuela de vida social. Somos miembros unos de otros.”

Según el profesor Göran K. Hansson integrante del Comité Nobel y profesor del Instituto Karolinska –autor de una completa fundamentación del premio otorgado– la obtención de los ratones transgénicos “ha transformado la fisiología y la medicina”<sup>1</sup>. En el campo de las ciencias biomédicas básicas resulta

<sup>1</sup>The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2007. En: [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2007\\_adv.pdf](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2007_adv.pdf); consultado el 26/12/07

difícil imaginar la investigación contemporánea sin el empleo de los modelos que resultan de la manipulación genética. La capacidad de generar mutaciones precisas en el genoma del ratón ha dado origen a nuevas concepciones acerca del desarrollo, la inmunología, la neurobiología, la fisiología y el metabolismo. Asimismo, ha permitido contar con modelos animales de enfermedades humanas, posibilitando así la disección experimental de estados patológicos, la identificación de nuevos objetivos para la terapéutica y el desarrollo de sistemas para el ensayo de nuevos fármacos. Finalmente, resulta evidente que, en el futuro, el diseño de nuevos tratamientos para corregir defectos genéticos en el ser humano se basará en la experiencia surgida a partir de la modificación genética en ratones, sustentada en los descubrimientos realizados por Mario Capecchi, Martin Evans y Oliver Smithies."

Es indudable que, como en el caso de todos los grandes logros científicos, habrá un antes y un después de la aparición de estos ratones "noqueados." Estos animalitos, contrariamente a lo que sugiere su denominación, circulan vivaces por los laboratorios de todo el mundo revolucionando la ciencia y desempeñando un papel esencial en el avance de nuestro conocimiento biológico.

Guillermo Jaim Etcheverry

e-mail: jaimet@mail.retina.ar

----

*Le génie génétique a soulevé passion et hostilité. Il est même devenu l'une des principales sources de la méfiance éprouvée à l'égard de la biologie. Pas tellement à cause des dangers que l'on a agités et qui n'excèdent pas ceux que l'on surmonte depuis longtemps avec l'expérimentation sur les bactéries et les virus pathogènes. Mais surtout parce que l'idée que l'on peut prélever des gènes chez un organisme, pour les insérer dans un autre, nous perturbe. La notion de ce que l'on a appelé "manipulations génétiques" ou "ADN recombinant" nous paraît toucher au surnaturel. Elle fait resurgir, de la nuit des temps, certains des mythes ancrés dans l'angoisse de l'homme. Elle évoque la terreur que provoque en nous la vision des monstres, la répugnance associée à l'idée des hybrides, des êtres unis contre nature.*

La ingeniería genética ha levantado pasiones y hostilidad. Incluso se ha convertido en una de las principales fuentes de la desconfianza que se experimenta ante la biología, y no tanto por causa de los peligros que se han esgrimido y que no son otros que los superados desde hace tiempo con los experimentos con bacterias y virus patógenos, sino sobre todo porque la idea de que podemos sacar los genes de un organismo para insertarlos en otro nos perturba. La noción de lo que se ha dado a llamar "manipulaciones genéticas" o "ADN recombinante" nos parece que raya en lo sobrenatural. Hace resurgir, de la noche de los tiempos, ciertos mitos anclados en la angustia humana: evoca el terror que provoca en nosotros la visión de monstruos, la repugnancia asociada a la idea de los híbridos, de los seres unidos contra natura.

Francois Jacob

*La souris, la mouche et l'homme.* Paris: Editions Odile Jacob, 1997, p 178  
*(El ratón, la mosca y el hombre.* Barcelona: Critica, 1998, p 147)