



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

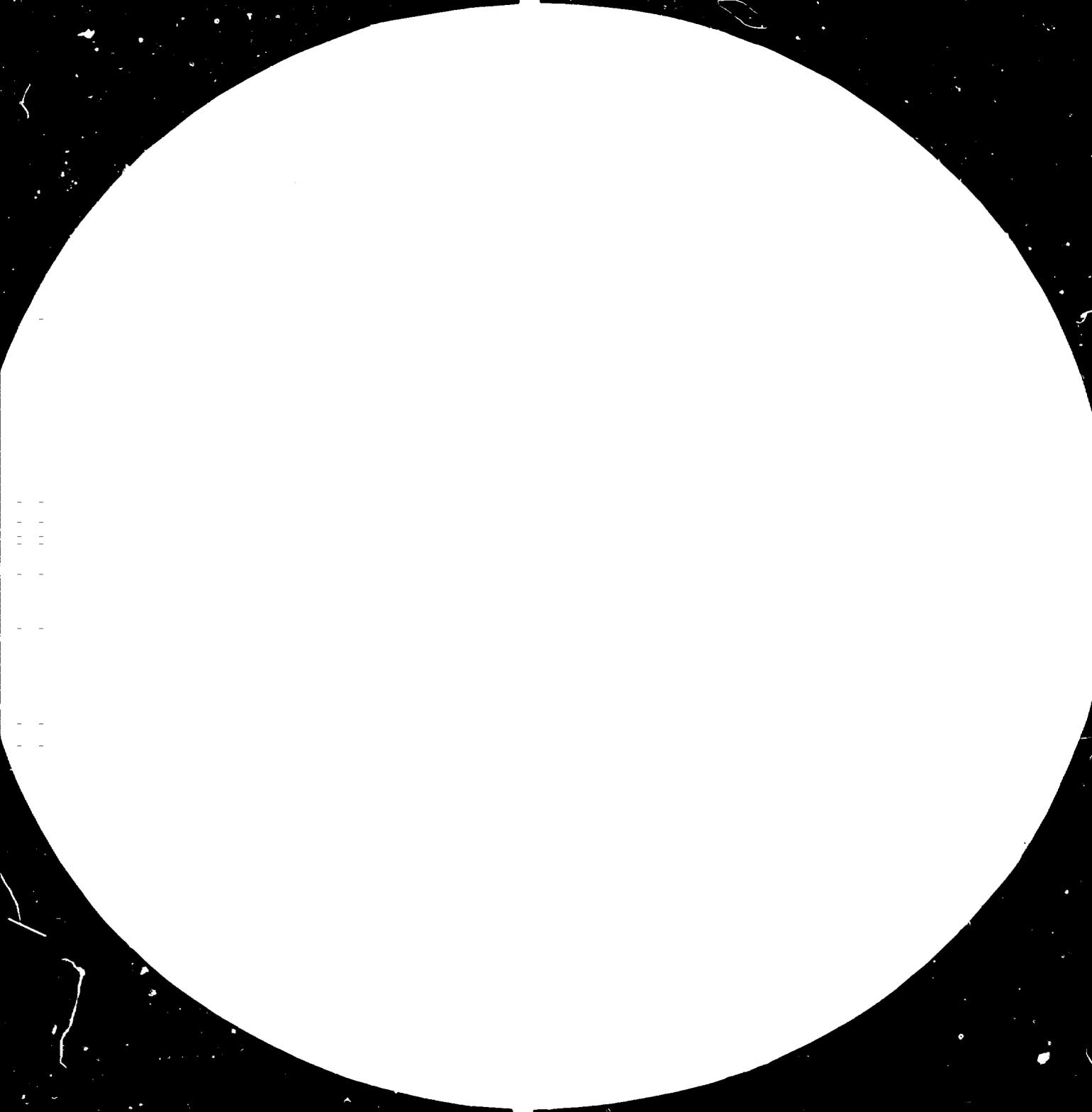
FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org





2.8

2.5



2.0

1.8



MICROPHOTOREPRODUCTION OF THIS PATTERN

WAS MADE BY THE NATIONAL BUREAU OF STANDARDS

U.S. GOVERNMENT PRINTING OFFICE: 1963 O - 352-000



11732-S



Distr. LIMITADA
ID/WG.382/2/Add.4
20 septiembre 1982
ESPAÑOL
Original: INGLES

Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial

Reunión de alto nivel sobre la creación del
Centro Internacional de Ingeniería
Genética y Biotecnología

Belgrado, Yugoslavia, 13-17 diciembre 1982

APLICACION DE LA INGENIERIA GENETICA Y DE LA BIOTECNOLOGIA A LA PRODUCCION
DE VACUNAS MEJORADAS PARA LOS SERES HUMANOS Y PARA ANIMALES, CON
PARTICULAR REFERENCIA A LAS ENFERMEDADES TROPICALES*

Documento preparado por

Ahmad Bukhari**

y

Ulf Pettersson***

* Las opiniones que los autores expresan en este documento no reflejan necesariamente las de la secretaría de la ONUDI. El presente documento es traducción de un texto que no ha pasado por los servicios de edición de la ONUDI.

** Investigador principal, Laboratorio de Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor, Nueva York 11724, Estados Unidos de América.

*** Profesor del Departamento de Genética Médica, Centro Biomédico, Universidad de Uppsala, Box 589, 751 23 Uppsala, Suecia.

INDICE

	<u>Página</u>
A. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION	1
- Enfermedades infecciosas importantes	3
- Técnicas necesarias para abordar el problema	3
- Construcción de ADN recombinante	4
- Tecnología celular	4
- Posibilidades de empleo de la nueva tecnología del ADN recombinante para la producción de vacunas humanas y animales	6
- Investigaciones en curso	8
- Preparación del plan de trabajo	10
B. ACTIVIDADES	12
- Formación	20
C. PLAN DE TRABAJO	21
D. COLABORACION CON OTRAS INSTITUCIONES E INTERACCION CON LABORATORIOS CLINICOS Y DE INVESTIGACION	24
E. REQUISITOS PREVIOS	25
F. NECESIDADES FINANCIERAS	26
- Presupuesto quinquenal	26
ANEXO I	
Cuadro 1. Principales enfermedades infecciosas humanas de los países en desarrollo para las cuales hay que producir vacunas	28
Cuadro 2. Principales enfermedades de los animales en los países en desarrollo - Evaluación de las posibilidades que ofrece la ingeniería genética para el mejoramiento de las vacunas	29
ANEXO II NECESIDADES DE EQUIPO	
Cuadro 1. Medios de trabajo y equipo que pueden compartirse con otros grupos en el CIIGB	32

A. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION

Los progresos de nuestros conocimientos sobre los procesos vitales a nivel molecular nos han llevado hasta el umbral de una nueva tecnología y de una nueva industria. Gracias a las nuevas técnicas, hoy es posible estudiar y resolver muchos problemas biológicos intrincados que hace unos años parecían inasequibles para el hombre de ciencia. Gran parte de los trabajos que actualmente se realizan tendrán dentro de pocos años aplicaciones prácticas cuyo impacto, en términos humanos y económicos, puede ser inmenso. Una de las primeras aplicaciones de las nuevas tecnologías consistirá en resolver los problemas planteados por las enfermedades infecciosas, todavía prevalentes en el mundo. Las enfermedades tropicales afectan a cientos de miles de personas. Como los especialistas en biología molecular están ahora en condiciones de abordar esos problemas con bastantes probabilidades de éxito, tenemos que tratar de resolverlos y aliviar así cuanto antes los sufrimientos de esas personas. Hasta la fecha, todos los trabajos tecnológicos modernos sobre las enfermedades de importancia para los países en desarrollo se han hecho en las naciones occidentales. Por ejemplo, cerca de un tercio de la población mundial vive en zonas expuestas al paludismo, casi todas situadas en países en desarrollo; y, sin embargo, la búsqueda de una vacuna antipalúdica mediante técnicas de ingeniería genética se ha localizado exclusivamente en los Estados Unidos y en Europa occidental. Esto se debe en gran parte al bajo nivel de la investigación científica y tecnológica, en particular sobre las nuevas biotecnologías, en los países en desarrollo. Algunas de las investigaciones realizadas en los países avanzados pueden estar ligadas a intereses comerciales, y no está claro cómo se resolverán los problemas de producción y comercialización.

Por consiguiente, será necesario iniciar un programa sobre enfermedades tropicales en el Centro Internacional de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIIGB). Como no es posible resolver al mismo tiempo todos los problemas y hay dificultades para obtener recursos, tendremos que preguntarnos:

- a) ¿Cuáles son los problemas que debemos tratar de resolver primero?
- b) ¿Cómo debemos tratar de resolverlos?

En este programa de trabajo se examinan algunas respuestas generales a estas cuestiones y se proponen algunos proyectos concretos con miras a iniciarlos y ejecutarlos inmediatamente.

Todo estudio sobre productos farmacéuticos y medicamentos en los años venideros deberá abarcar no sólo las enfermedades humanas sino también las de los animales y quizá las de las plantas de importancia económica. Sin embargo, como no es posible estudiar todas estas importantes enfermedades, ni siquiera por encima, pues su número resultaría abrumador, aquí nos ocuparemos sobre todo de las enfermedades humanas. El método general de estudio, e incluso los métodos que se apliquen específicamente a los problemas de patología animal, serán los mismos que se emplean para las enfermedades humanas.

Las enfermedades humanas pueden dividirse en tres grandes grupos:

- a) Enfermedades infecciosas;
- b) trastornos genéticos; y
- c) trastornos patológicos generales del organismo humano.

Muchas enfermedades infecciosas siguen siendo frecuentes en los países en desarrollo y cada año se infectan en los trópicos gran número de personas. En todo el mundo se encuentran enfermedades genéticas, como las que afectan a los componentes de la sangre y a las hormonas, aunque algunas pueden prevalecer en determinadas poblaciones y regiones (por ejemplo, la drepanocitosis en las poblaciones africanas y la beta-talasemia en las del Mediterráneo). Las enfermedades humanas de carácter general no reconocen fronteras; el cáncer, las cardiopatías, los trastornos respiratorios, las enfermedades degenerativas, etc., constituyen problemas de primera importancia en los países industrialmente avanzados. Conviene advertir, sin embargo, que la incidencia de estas enfermedades está aumentando rápidamente en los países en desarrollo como consecuencia de la industrialización y del mayor uso de productos químicos. Los países industrialmente avanzados están dedicando grandes esfuerzos y mucho dinero a aclarar los mecanismos por los que se producen muchas de esas enfermedades. Estos trabajos forman parte de programas de desarrollo a largo plazo con objetivos definidos de un modo muy general. El problema es más sencillo en el caso de las enfermedades tropicales, cuyos agentes causales conocemos. Por consiguiente, si podemos impedir que el agente infeccioso penetre en el cuerpo humano o si, cuando ya ha penetrado, podemos impedir que se multiplique o si, una vez establecida la enfermedad, podemos destruirlo, tendremos la posibilidad de eliminar el problema planteado por la enfermedad de que se trate. Gracias a este objetivo claramente definido (combatir al agente infeccioso con vacunas o medicamentos) y a la posibilidad real de alcanzarlo, el programa de trabajo sobre las enfermedades tropicales promete ser una empresa productiva y remuneradora.

Enfermedades infecciosas importantes

Las enfermedades infecciosas pueden dividirse en tres clases:

- a) las causadas por parásitos;
- b) las causadas por bacterias; y
- c) las causadas por virus.

En los cuadros 1 y 2 se enumeran algunos ejemplos usuales de estas enfermedades. Ciertas enfermedades bacterianas son endémicas en los países en desarrollo. Las enfermedades parasitarias causadas por gusanos o protozoos tienen una tasa de incidencia muy elevada y afectan a gran número de personas. La cifra anual de casos de paludismo es aproximadamente de 150 millones y en muchos países el número de casos va en aumento. En Africa siguen muriendo todos los años de esta enfermedad más de un millón de niños. En América del Sur se calcula que hay unos diez millones de personas infectadas por los tripanosomas que causan la enfermedad de Chagas. Esta enfermedad provoca insuficiencia cardiaca congestiva y otros trastornos incapacitantes, y no se dispone de ningún tratamiento eficaz para hacerle frente. Otros tripanosomas que causan la enfermedad del sueño producen 10.000 casos nuevos al año en Africa, pero la enfermedad amenaza continuamente con alcanzar proporciones epidémicas, como sucedió a principios de siglo. Si no se trata, la enfermedad del sueño es inevitablemente mortal a causa de la invasión y destrucción del sistema nervioso central. Por otra parte, la tripanosomiasis animal constituye un grave obstáculo para el bienestar humano por los graves problemas agrícolas y económicos que plantea. Más de tres millones de reses mueren cada año de diversas formas de la enfermedad y en 10.000.000 km² del continente africano es imposible criar ganado vacuno, ovejas y cabras. Pero incluso estas cifras parecen modestas cuando se toma en consideración la incidencia de las enfermedades causadas por distintos tipos de gusanos. En el cuadro 1 se enumeran algunas de las enfermedades humanas más corrientes. Entre las enfermedades de primera importancia que podrían ser objeto de investigación en el CIIGR figuran el paludismo, la esquistosomiasis, la filariasis, la diarrea infantil, la lepra y la tripanosomiasis.

Técnicas necesarias para abordar el problema

El gran interés que suscita el posible aprovechamiento de la tecnología moderna para la producción de nuevos tipos de vacunas y anticuerpos es consecuencia directa de dos importantísimos progresos de la biología.

Construcción de ADN recombinante

El esclarecimiento de la estructura y la función de la información genética codificada en el ADN durante el pasado decenio ha culminado en la aparición de la ingeniería genética, es decir, la capacidad de manipular el ADN a voluntad. El ADN de un organismo puede recombinarse con el ADN de otro organismo en tubos de ensayo, dando ADN recombinante. El ADN recombinante puede añadirse entonces a un organismo vivo. De este modo, los genes de una bacteria se pueden añadir a otra bacteria, combinando las propiedades útiles de ambas. Análogamente, es posible transferir a una bacteria genes de un planta o un animal de manera que se repliquen del mismo modo que los genes bacterianos. Como las bacterias se multiplican con rapidez -el tiempo de generación puede ser sólo de veinte minutos- y pueden cultivarse fácilmente en el laboratorio, es posible obtener grandes cantidades de los genes transferidos a esas bacterias. Por otra parte, puede lograrse que los genes se expresen en esas bacterias, facilitando así el acceso a importantes productos génicos que de lo contrario sería muy difícil obtener en grandes cantidades. También puede ser posible transferir genes convenientes a las plantas y a los animales.

Tecnología celular

Durante los últimos veinte años se ha registrado un progreso continuo de la tecnología celular, que puede definirse como la manipulación de células enteras. La tecnología celular tiene varios aspectos diferentes, uno de los cuales es cambiar el contenido interno de la célula: por ejemplo, implantar nuevos genes en las células o añadir proteínas y otras sustancias para estudiar sus propiedades. El material extraño puede inyectarse con precisión en el citoplasma o, utilizando técnicas de microinyección con agujas ultrafinas, en el núcleo. También están estableciéndose técnicas para introducir el material en la célula encerrándolo en pequeñas bolsitas o cápsulas llamadas "liposomas", constituidas por sustancias grasas que se fusionan fácilmente con la membrana de las células. Otro aspecto de la tecnología celular es el desarrollo de tejidos multicelulares a partir de una sola célula. Esto se ha conseguido hasta ahora con plantas, habiendo podido obtenerse una planta completa a partir de una sola célula. Excusado es decir que este resultado no se ha revelado posible con animales. Por lo general, en los sistemas animales

sólo son susceptibles de manipulación las células embrionarias. En la rana cabe la posibilidad de transplantar núcleos de células embrionarias a huevos, cuyos núcleos se eliminan previamente, para formar embriones viables. Por métodos análogos se ha logrado producir ratones idénticos.

Una modalidad espectacularmente eficaz de tecnología celular consiste en fusionar dos células para obtener células híbridas. Así, si no puede cultivarse fácilmente una célula que produzca una sustancia importante, cabe la posibilidad de fusionarla con otra que se reproduzca bien en condiciones de laboratorio, con lo que puede obtenerse un híbrido que fabrique el producto deseado. Este principio ha sido la base de un importante progreso en la fabricación de anticuerpos, que son sustancias producidas por los animales para combatir las invasiones de virus, bacterias y otros materiales proteínicos. Los anticuerpos se obtienen normalmente de la sangre de los animales. Ahora bien, hoy es posible fusionar una célula tumoral capaz de formar anticuerpos con una célula que esté ya formando un anticuerpo importante. La célula híbrida sigue luego multiplicándose y origina una clona de células que se reproducen fácilmente como células tumorales, pero producen el anticuerpo deseado. Esta técnica de producción de hibridomas para obtener anticuerpos monoclonales tendrá probablemente amplias repercusiones en la medicina.

En general, es más sencillo fusionar dos células cualesquiera utilizando agentes tales como virus que entremezclando las membranas de ambas células. Sin embargo, sólo se mantiene funcionalmente adecuado el híbrido obtenido con células de una sola especie; los híbridos de células procedentes de dos especies distintas no son estables. Esto responde a una regla fundamental de la biología, según la cual los individuos de una especie no se cruzan con los de otra especie. Esta "barrera interespecies" mantiene estable la infraestructura de nuestro mundo biológico. Ahora bien, como pueden fusionarse células de dos especies, cabe la posibilidad de derivar híbridos funcionales en un sentido limitado. Algunas propiedades de una célula pueden transferirse a otra. Esto es particularmente importante en las plantas, toda vez que es posible obtener una planta entera de una sola célula. Así pues, pueden fusionarse células de diferentes plantas para obtener una planta con propiedades útiles.

Estas técnicas no permiten estudiar en detalle los genes y los productos génicos que intervienen en la patogenicidad. Estamos en condiciones de identificar fácilmente aquellos antígenos de un microorganismo patógeno que suscitan una

respuesta inmunitaria en el hombre o en los animales. A continuación se pueden clonar los genes correspondientes a esos antígenos mediante técnicas de ADN recombinante en células huésped apropiadas que puedan propagarse fácilmente. Por último, es posible purificar los antígenos a partir de estas nuevas células huésped y obtener anticuerpos contra ellos mediante técnicas de formación de hibridomas.

Posibilidades de empleo de la nueva tecnología del ADN
recombinante para la producción de
vacunas humanas y animales

Desde hace más de un siglo se dispone de técnicas para fabricar vacunas eficaces y, como es sabido, gracias a un programa de vacunación bien concebido se ha logrado erradicar la viruela en todo el mundo. También el programa de vacunación contra la poliomielitis ha tenido gran importancia para la humanidad. Por desgracia, los métodos clásicos de fabricación de vacunas son en muchos aspectos engorrosos y caros, ya que la producción de vacunas de virus animales requiere el cultivo en gran escala de células de cultivo tisular. Algunos microorganismos de gran importancia médica, sin embargo, son difíciles de propagar en condiciones de laboratorio. Se ha pensado que la ingeniería genética permitiría evitar estos inconvenientes y podría usarse para producir vacunas eficaces. En estas condiciones, salta a la vista la importancia de un buen programa de vacunación para los países en desarrollo. Es probable que las vacunas preparadas con la tecnología del ADN recombinante, aunque todavía no se utilizan en la práctica, ofrezcan cierto número de ventajas en comparación con las preparadas por los métodos clásicos:

- a) La vacuna no contendrá el agente infeccioso entero, lo cual elimina el riesgo de propagación de infecciones durante el proceso de fabricación o por manipulación de grandes cantidades del agente infeccioso. Este problema tiene considerable importancia, por ejemplo, en relación con la producción de vacunas contra el virus de la fiebre aftosa.
- b) No se requieren procesos inactivadores y se evita la pérdida de actividad causada por el efecto deletéreo de esos procesos.
- c) No se requiere ninguna prueba de inocuidad de la vacuna, al menos en términos de infecciosidad residual.

- d) No se requiere cultivo en gran escala de células de mamífero, que exige especial pericia técnica.
- e) Mediante las tecnologías del ADN recombinante pueden producirse cantidades considerablemente mayores de cualquier vacuna, con lo que los defectos de potencia podrían quedar neutralizados por la escala de producción.
- f) La manipulación de la vacuna exigirá menos precauciones, pues es muy probable que puedan fabricarse vacunas que no requieran refrigeración ni un manejo tan cuidadoso como las vacunas clásicas. Esto facilitará el almacenamiento y la distribución.
- g) Los costes de producción serán probablemente menores y el abastecimiento de vacuna será prácticamente ilimitado en cuanto se haya construido un recombinante adecuado para la producción de vacuna.

A esta lista de ventajas pueda añadirse también el hecho de que la tecnología del ADN recombinante permitirá fabricar vacunas contra microorganismos cuya propagación en el laboratorio es difícil, peligrosa o imposible. Dentro de este grupo se encuentran los agentes de ciertas importantes enfermedades humanas como el paludismo y la hepatitis.

En los países en desarrollo, las causas de las enfermedades infecciosas humanas y animales son agentes patógenos bacterianos, víricos y protozoológicos. Aunque los tres grupos de agentes tienen considerable importancia en la mayor parte de los países en desarrollo, conviene advertir que la ingeniería genética es más fácil de aplicar y ofrece posiblemente más ventajas para la manipulación de virus que para la de bacterias o protozoos.

El principio en que se basa el empleo de la ingeniería genética en la producción de vacunas es la inserción de un gen (o de un número limitado de genes) del agente patógeno en un vector que luego se transfiere a un huésped adecuado para su expresión. Para la construcción de cepas productoras de vacuna es absolutamente indispensable conocer el gen que es capaz de codificar el antígeno o los antígenos que suscitan la formación de anticuerpos protectores. Cuando se conoce el antígeno protector para algunos virus, es relativamente fácil identificar el gen apropiado, toda vez que la mayoría de los virus contienen una cantidad limitada de información genética. No sucede así en el caso de los agentes patógenos más complejos (protozoos, por ejemplo),

por lo que se necesita un gran volumen de investigación básica para identificar el antígeno apropiado y aislar luego el gen correspondiente a fin de expresarlo en una célula receptora. Entre los problemas que habrá que estudiar mejor antes de que la tecnología del ADN recombinante se convierta en método general de fabricación de vacunas, cabe citar los siguientes:

- a) Estructura y regulación de los genes en los agentes patógenos más complejos;
- b) Identificación del antígeno o de los antígenos que suscitan la formación de anticuerpos protectores;
- c) Expresión de alto nivel en el receptor de antígenos que son activos respecto a la inducción de anticuerpos. Esto exigirá a veces una modificación de la proteína y/o del clivaje;
- d) Purificación del antígeno o de los antígenos apropiados. Esto constituye un problema importante, ya que en muchos casos se necesitarán grandes cantidades de antígeno;
- e) Métodos de producción de preparaciones potentes y estables del antígeno que susciten una inmunidad intensa y duradera; y
- f) Problemas relacionados con la variación antigénica.

Investigaciones en curso

Las posibilidades de aplicación de la tecnología del ADN recombinante a la producción de vacunas se reconocen desde hace mucho tiempo y varios laboratorios están tratando ya de obtener vacunas contra algunos agentes patógenos de importancia para los países en desarrollo. Entre los proyectos de investigación en curso cabe citar la producción de una vacuna contra el virus de la fiebre aftosa (VFA). Ya se ha logrado clonar y expresar satisfactoriamente el gen que suscita la formación de anticuerpos anti-VFA. En un ensayo de la vacuna en el que se utilizó un pequeño número de reses se han obtenido resultados prometedores y, en principio, parecen resueltos los problemas relacionados con la aplicación de la tecnología del ADN recombinante a la producción de vacunas contra el VFA. Lo que aún está por hacer es fabricar vacunas multivalentes, mejorar al máximo la expresión, establecer métodos sencillos de purificación y producir preparaciones antigénicas potentes. No obstante, parece indudable que la tecnología del ADN recombinante contribuirá en gran medida a resolver el problema planteado por el VFA.

La hepatitis B plantea otro problema médico que se ha tratado de abordar mediante la ingeniería genética en los últimos años. Se ha clonado el genoma del virus de la hepatitis B y se ha aclarado su estructura a nivel de nucleóticos, si bien no es posible propagar el virus en cultivos celulares. El antígeno de superficie que se necesita para fabricar la vacuna plantea un problema más difícil que en el caso del VFA, por tratarse de una glucoproteína. Es difícil lograr la expresión del antígeno de superficie nativo en las bacterias y no se produce una modificación adecuada del antígeno en huéspedes procarióticos. La solución del problema parece residir en el empleo de sistemas vector/huésped eucariótico, y se han obtenido resultados prometedores utilizando levaduras o células animales como huéspedes para producir el antígeno de superficie.

El virus de la gripe es otro ejemplo interesante, pues pone de relieve el problema de la variación antigénica. Se ha logrado en bacterias la clonación de genes que codifican antígenos de varias cepas del virus de la gripe y se ha aclarado el fundamento de la variación antigénica. Es probable que puedan obtenerse vacunas multivalentes por métodos de ingeniería genética, aunque para conseguirlo se necesitarán nuevos estudios.

En el caso de los parásitos más complejos los progresos han sido menos espectaculares. Con los tripanosomas se han logrado resultados muy interesantes y el estudio molecular de este parásito progresa a buen ritmo. Varios laboratorios de los Estados Unidos y de Europa occidental están trabajando sobre la biología molecular de los parásitos del paludismo. A pesar de los importantes progresos realizados, aún parece remoto el momento en que se consiga clonar y expresar por ingeniería genética antígenos específicos del paludismo. No obstante, los resultados obtenidos recientemente demuestran que el proyecto es viable.

El programa de trabajo sobre enfermedades tropicales podría tener cuatro objetivos:

- 1) encontrar una explicación detallada de los mecanismos por los que diversos agentes infecciosos provocan enfermedades. Esto podría lograrse estudiando el ciclo vital de los microorganismos patógenos por las nuevas técnicas, utilizando la clonación y el análisis génico, el establecimiento de métodos para amplificar los productos génicos y produciendo anticuerpos monoclonales contra los productos génicos pertinentes. Estos estudios culminarán en el hallazgo de medicamentos, vacunas y estrategias para combatir las enfermedades;

- 2) producir vacunas mejores y más baratas contra los agentes patógenos de especial importancia para los países en desarrollo. El objetivo inmediato consistirá en seleccionar un número limitado de agentes para estudiarlos detalladamente y luego identificar con la máxima ponderación los antígenos de utilidad para la producción de vacunas. Cuando existan ya medios organizados para la producción de una vacuna, como sucede en el caso del VFA, el Centro deberá pasar inmediatamente a resolver los problemas relacionados con la producción a escala piloto, la purificación y la distribución de la vacuna;
- 3) dar formación a especialistas de los países en desarrollo en las nuevas tecnologías de gran eficacia, de manera que puedan establecer programas para el estudio de las enfermedades que pudieran tener especial importancia en sus países; y
- 4) organizar grupos de trabajo y reuniones con miras a mejorar la comunicación entre los hombres de ciencia de los países en desarrollo y de los desarrollados, y enriquecer en general el estado de nuestros conocimientos sobre diversos trastornos y enfermedades.

Preparación del plan de trabajo

En el CIIGB habrá que hacer una cuidadosa selección en relación con los proyectos. Gran número de agentes patógenos causan importantes enfermedades en los países en desarrollo, y lo mismo ocurre con los agentes causales de enfermedades graves en el ganado. Muchos de estos agentes patógenos podrían utilizarse para la producción de vacunas. Ahora bien, un programa eficaz debe estar centrado en un número limitado de agentes y hay que establecer un orden de prioridad basado en la viabilidad y en la demanda. En los cuadros 1 y 2 se enumeran algunos de los proyectos seleccionables. La selección definitiva la hará la Junta de Asesores Científicos cuando el Centro se encuentre establecido. También habrá que fijar un orden de prioridad aplicable a la elección entre proyectos de vacunas humanas y de vacunas animales. A este respecto conviene indicar que varios institutos de países desarrollados han iniciado ya trabajos con miras a producir vacunas contra patógenos humanos y, probablemente, convendría dar cierta prioridad a las vacunas animales. Excepto en el caso del VFA y otros análogos, la producción de vacunas animales resultará probablemente menos rentable y, por consiguiente, ocupará un lugar secundario en el orden de

prioridad de las compañías tecnológicas que ya se han establecido en los Estados Unidos y en Europa occidental. Las pérdidas de ganado deterioran gravemente las condiciones de vida de la gente en los países en desarrollo, por lo que un buen programa de vacunación de los animales puede tener en muchos aspectos un impacto tan grande como el de los programas dirigidos contra las enfermedades infecciosas humanas. Las vacunas veterinarias tienen además la ventaja de que requieren menos ensayos caros y engorrosos antes de proceder a su aplicación práctica.

Conviene advertir también que la producción de vacunas por ingeniería genética no es siempre el método preferible para combatir las enfermedades infecciosas. En algunos casos ya se dispone de potentes vacunas producidas por los métodos clásicos, y la ingeniería genética no siempre ofrece ventajas evidentes. Además, a veces puede ser sumamente difícil componer vacunas contra los agentes patógenos más complejos, sobre todo cuando son frecuentes las variaciones antigénicas. Por consiguiente, siempre debe tenerse en cuenta la quimioterapia como alternativa de la fabricación de vacunas. Tanto el programa de vacunas como el de quimioterapia contra las enfermedades tropicales requerirán un volumen considerable de investigación básica con el fin de aclarar la biología molecular y el metabolismo de los patógenos más complejos y, en consecuencia, deben estar estrechamente coordinados. Así pues, siempre que se examine la posibilidad de que el CIIGB emprenda un proyecto, habrá que plantearse las siguientes cuestiones:

- a) ¿Está indicada la vacunación?
- b) ¿Existen ya vacunas y, en caso afirmativo, son satisfactorias en cuanto a calidad y cantidad?
- c) ¿Ofrece la ingeniería genética alguna ventaja evidente respecto a los métodos clásicos de producción de vacunas?

También debe establecerse un programa de investigaciones sobre la esquistosomiasis y otras helmintiasis con miras a encontrar vacunas y procedimientos de diagnóstico para esas enfermedades, aunque para completar tales proyectos se necesitará probablemente un plazo mucho mayor de cinco años.

B. ACTIVIDADES

El programa de trabajo sobre enfermedades tropicales deberá tener tres componentes principales:

- 1) investigación y desarrollo;
- 2) formación; y
- 3) grupos de trabajo y reuniones.

La investigación debe entrañar un trabajo en profundidad sobre un determinado microorganismo patógeno a nivel molecular, especialmente centrado en los mecanismos de la patogenia y la respuesta inmunitaria. Los estudios sobre la organización genética de un agente patógeno, sobre sus proteínas superficiales, sobre su modo de adherirse a las superficies celulares o sobre su metabolismo ayudarán a establecer estrategias de prevención (obtención de vacunas y otros medicamentos preventivos), diagnóstico (identificación de las personas expuestas) y tratamiento (obtención de medicamentos y productos farmacéuticos). Estos estudios requieren laboratorios adecuados para la clonación de genes, el cultivo de células, el análisis de las secuencias de proteínas y ADN, la síntesis de proteínas y ADN, y la formación de anticuerpos monoclonales. Un programa eficaz, por consiguiente, exigirá toda la gama de técnicas modernas. Una de las principales ventajas que ofrecerá el CIIGB es el hecho de ser un centro completo, respaldado por personal experto en genética y biología moleculares, lo cual permite estudiar diversos problemas importantes en forma concertada.

El problema capital es decidir qué investigación debe emprenderse primero. No parece que vaya a resultar fructífero para el CIIGB emprender programas de clonación de genes para los anticuerpos mejor conocidos y para algunas hormonas bien conocidas como la insulina, ya que las investigaciones en esos terrenos están bastante avanzadas. Convendría que el CIIGB examinara la posibilidad de emprender los siguientes proyectos y actividades:

- a) Genética de los parásitos;
- b) Búsqueda de vacunas contra agentes patógenos complejos;
- c) Genética de algunas bacterias patógenas y producción de toxinas;
- d) Vacunas contra virus (v.g., VFA, hepatitis);
- e) Banco de genes de microorganismos patógenos;
- f) Biología molecular de las células de mamífero;

- g) Grupos de trabajo;
- h) Servicios consultivos y complementarios;
- i) Otros procedimientos;
- j) Diagnóstico de microorganismos; y
- k) Ensayos clínicos.

a) Genética de los parásitos

La parasitología se encuentra ahora en el radio de acción de la biología molecular, lo cual no es de extrañar habida cuenta de los progresos de esta última ciencia. Los primeros resultados se obtuvieron con las bacterias, seguidamente las levaduras se convirtieron en tema favorito de estudio y en la actualidad es posible abordar sistemas algo más complicados, como los protozoos, por lo que se están multiplicando rápidamente las investigaciones en este campo con perspectivas aparentemente muy prometedoras. Habrá pues que emprender sólidos programas de investigación sobre parásitos complejos (gusanos) y sobre otros parásitos más sencillos (protozoos).

Un importante parásito complejo es el Schistosoma mansoni. Un buen plan de estudios sobre la esquistosomiasis quizá permita encontrar una vacuna e incluso un medicamento que pueda usarse en combinación con la vacuna. Las infecciones por esquistosomas se deben a larvas infectantes que se encuentran en el agua al desprenderse del huésped intermediario, que es un caracol. Estas larvas atraviesan la piel del huésped mamífero y se transforman rápidamente en parásitos fisiológicamente adaptados, denominados esquistosómulas. Estos inician entonces una fase de migración y maduración que dura cuatro semanas y que les lleva primero, a través del sistema venoso, hasta los pulmones (donde es posible encontrarlos en gran número) y después a los vasos del sistema porta hepático, donde las larvas completan su desarrollo hasta la fase adulta. Una vez instalados en el torrente sanguíneo, los esquistosomas producen infecciones crónicas de larga duración, que en el hombre puede ser de decenios. Durante este período los parásitos suscitan manifiestamente una respuesta inmunitaria. Tanto en personas con infecciones crónicas como en huéspedes experimentales se ha encontrado una amplia variedad de diferentes reacciones humorales y celulares contra los antígenos esquistosómicos. Los animales de laboratorio portadores de esquistosomas adultos adquieren una resistencia parcial o total a las infecciones ulteriores. Así pues, la respuesta protectora está provocada por un parásito que no sufre en sí mismo

los efectos de la respuesta. Este fenómeno de evasión de la inmunidad en la esquistosomiasis suscita dos interesantes cuestiones:

- 1) ¿Cuáles son el objetivo y el mecanismo efector de la respuesta inmunitaria protectora?
- 2) ¿Cuál es la índole de la adaptación que permite evadir esta respuesta al parásito establecido? Las respuestas a estas dos cuestiones son importantes para trazar planes inmunológicos de lucha contra la esquistosomiasis y aportarán ideas generales sobre los problemas de las enfermedades parasitarias.

De todos los protozoos parásitos, el plasmodio palúdico es sin duda el que más interés ofrece como tema de estudio para el CIIGB. Los trabajos emprendidos en varios laboratorios (por ejemplo, los Laboratorios Wellcome en Inglaterra y los de la Universidad de Nueva York en los Estados Unidos de América) progresan sistemáticamente hacia el objetivo de encontrar una vacuna antipalúdica. La biología molecular del parásito del paludismo se conoce mal, pese a la extraordinaria importancia que tiene este parásito para las personas. Esta sorprendente ignorancia se debe a que los investigadores no disponen de instrumentos ni de métodos para estudiar las complejidades de los microorganismos de un nivel superior al de las bacterias. Afortunadamente, ya han aparecido algunos nuevos instrumentos gracias a los progresos de la biología molecular y, en consecuencia, hoy se está produciendo una revolución en el campo de la parasitología.

De los cuatro parásitos del paludismo, Plasmodium falciparum, P. vivax, P. ovale y P. malariae, sólo puede cultivarse fácilmente in vitro el primero, que es el causante del paludismo agudo. Los trabajos sobre este parásito se han visto facilitados por el cultivo del mismo, logrado por primera vez en 1976. Sin embargo, en algunos laboratorios se está trabajando también con otros plasmodios. Un proyecto bien definido podría consistir en identificar los antígenos importantes en estos parásitos palúdicos, aislar el ARN mensajero correspondiente, hacer copias de ADN del ARN y clonar luego el ADN en C. coli de manera que pueda producirse el antígeno en células bacterianas. Por este procedimiento se podría obtener una vacuna útil, así como anticuerpos monoclonales que serían susceptibles de empleo inmediato para proteger a las personas muy expuestas.

Los microorganismos patógenos, como cualquier otro microorganismo, sufren mutaciones por diversos mecanismos y se hacen resistentes a los medicamentos.

De igual modo, pueden hacerse resistentes a los anticuerpos mediante una modificación de sus estructuras antigénicas. Por consiguiente, los estudios genéticos a nivel molecular han adquirido gran importancia para comprender la naturaleza de la variación antigénica. Es evidente, pues, que los estudios genéticos sobre plasmodios deben ser parte integrante del programa de investigaciones. En el P. falciparum se han obtenido algunos cruzamientos genéticos inyectando parásitos de tipos de apareamiento opuestos a animales. Es posible que se puedan establecer in vitro buenos procedimientos de apareamiento y esto, unido al aislamiento de mutantes, podría ser un excelente punto de partida para comprender la genética de este microorganismo.

b) Vacunas contra agentes patógenos complejos como los protozoos (paludismo, tripanosomas, etc.)

Los agentes patógenos del tipo del P. falciparum plantean el problema de que están transmitidos por vectores (los mosquitos, en el caso del paludismo). El agente adopta entonces diferentes formas durante su ciclo vital en el organismo humano y en el insecto. Las distintas fases evolutivas del parásito tienen diferentes propiedades antigénicas que dificultan la obtención de una vacuna mediante la ingeniería genética. Como, además, los genomas de los protozoos son muy complejos, resulta difícil identificar el gen o los genes que se necesitan para lograr una expresión genética adecuada. Toda estrategia de obtención de vacunas antipalúdicas deberá comprender los siguientes elementos:

1. Instalaciones para el cultivo del patógeno en cantidad suficiente para la producción de ADN, ARNm y antígeno;
2. Empleo de modelos animales para identificar el antígeno o los antígenos protectores;
3. Producción de anticuerpos monoclonales para la identificación de anticuerpos protectores;
4. Estudios estructurales sobre los antígenos del parásito;
5. Fraccionamiento del ARNm y traducción in vitro. Construcción de bibliotecas de genes y ADNc;
6. Identificación del gen o de los genes apropiados. Como se trata de una labor difícil, podrían preverse diferentes estrategias como la selección de ARNm en ADN clonado, seguida de inmunoprecipitación con

con anticuerpos monoclonales. También podría utilizarse la transferencia génica, seguida de identificación de antígenos de superficie específicos. Asimismo podrían usarse oligonucleótidos sintéticos para la identificación, siempre que se conociera parte de la secuencia proteínica;

7. Una vez identificados el gen o los genes, habrá que emprender un estudio con miras a lograr la expresión del antígeno o de los antígenos adecuados para producir la vacuna.

c) Enfermedades causadas por bacterias y sus toxinas

La lepra y la tuberculosis son dos importantes enfermedades bacterianas. También es sumamente importante la diarrea infantil en los países en desarrollo, donde debilita o mata a gran número de lactantes. Varias otras enfermedades bacterianas son endémicas en todo el mundo en desarrollo. Un proyecto importante podría consistir en encontrar un procedimiento de diagnóstico y anticuerpos protectores contra la lepra. Otro no menos interesante sería lograr el desarrollo de anticuerpos protectores contra las toxinas causantes de la diarrea infantil (con lo que se dispondría a la vez de vacunas y anticuerpos contra las dos enfermedades).

Las investigaciones sobre la lepra deben comprender la identificación de los antígenos importantes y la clonación de sus genes en E. coli, a fin de obtener los antígenos pertinentes en gran cantidad. Conviene advertir que el Mycobacterium leprae, agente causal de la lepra, sólo se ha podido cultivar hasta ahora en armadillos del sur de los Estados Unidos de América. Una combinación de anticuerpos protectores y medicamentos podría ser un medio eficaz de combatir la lepra. La disponibilidad de anticuerpos apropiados hará posible establecer procedimientos de diagnóstico, mientras que un conocimiento más detallado del agente nos permitirá encontrar nuevos métodos de cultivo gracias a los cuales podremos disponer en su día de nuevos medicamentos.

Los estudios sobre la toxina del cólera y sobre una enterotoxina afín de E. coli que causa diarreas agudas en el hombre y en los animales han llegado a un punto en que parece posible preparar una vacuna eficaz. En el caso del cólera, el problema consiste en que, si bien la infección natural por Vibrio cholerae confiere una inmunidad prolongada, las actuales vacunas de células enteras sólo aportan una protección limitada y de corta duración. La clonación de genes de toxina es una empresa técnicamente fácil. Una vez clonados,

estos genes pueden ser manipulados (por ejemplo, mutados in vitro) para que produzcan toxinas que son inmunógenas, pero no activas. Los estudios que comprenden la mutagénesis loco-específica in vitro de esos genes pueden ser importantes en muchos sectores diferentes y deben constituir una de las actividades del CIIGB.

d) Producción de vacunas contra virus como el VFA, el de la hepatitis, el de la gripe, etc.

Ya se ha ofrecido una buena solución para el problema de la producción de vacuna contra el VFA. El principio en que se basa es bastante sencillo, pues se ha identificado el gen que codifica los antígenos protectores. En un vector bacteriano se insertan copias de ADNc del ADN viral y se obtiene la expresión usando señales ya existentes en el vector. En la mayor parte de los casos, el resultado será una proteína fusionada, constituida por secuencias bacterianas y virales. Esta propiedad particular no parece ser un problema, sino más bien una ventaja para la purificación del antígeno. Aunque ya se han construido cepas bacterianas que producen un antígeno de VFA adecuado para la producción de vacuna, habrá que llegar a un nivel óptimo en vista de que se necesitan cantidades masivas de la vacuna para aplicar con éxito un programa de erradicación. Así pues, habrá que examinar la posibilidad de utilizar otros sistemas de huésped y vector que sean más fáciles de manejar, más baratos en relación con el cultivo y que exporten el antígeno en el medio de cultivo. Por último, habrá que evaluar cuidadosamente la inmunogenicidad del antígeno y se harán preparaciones que confiera una protección duradera. Este último requisito puede suponer complejas manipulaciones del gen que codifica el antígeno, de manera que se produzca una proteína alterada que tenga más poder inmunógeno que el antígeno natural.

La estrategia básica para la construcción de microorganismos productores de vacuna es la misma que antes se ha descrito. En los casos en que se conoce el antígeno protector, el fragmento apropiado de ADN que contiene el gen o la copia de ADNc de un ARN viral se inserta en un vector idóneo a fin de lograr la expresión. La inmunoprecipitación permite comprobar si se ha conseguido una buena expresión. Hay que tener muy en cuenta la posibilidad de que el antígeno se modifique por glucosilación de clivaje, en cuyo caso habrá que evaluar adecuadamente el papel de la modificación sobre la formación de anticuerpos protectores. Si la modificación es de importancia, se adoptará una estrategia más complicada en la que se utilicen sistemas de vector y huésped eucariótico.

También debe tenerse en cuenta el problema de la variación antigénica. En algunos casos habrá que hacer estudios sobre el terreno para evaluar la importancia de la variación antigénica y se adoptarán diferentes estrategias adaptadas a cada situación particular.

e) Bancos de genes de microorganismos patógenos

Entre otras funciones útiles, el CIIGB puede clonar y almacenar sistemáticamente genomas completos de diversos agentes patógenos infecciosos y sus vectores. Esta labor no está al alcance de ningún otro centro o investigador cuyos intereses se limiten a proyectos concretos. Al disponer de un banco de este tipo, el CIIGB se convertiría en depositario de un material biológico muy importante, del que podrían servirse los investigadores del propio Centro y del exterior.

f) Biología molecular de las células de mamífero

Teniendo presente que en otros muchos proyectos del Centro se necesitarán complejas técnicas de cultivo celular, convendría contar con un pequeño grupo de investigadores dedicado a algunos aspectos fundamentales de la genética de las células de mamífero, en particular las humanas. Un proyecto que puede ser útil es el estudio de los efectos de las hierbas medicinales tradicionales sobre el crecimiento y la expresión génica de las células de mamífero.

g) Grupos de trabajo

La organización de grupos de trabajo especializados y de reuniones de carácter general debe formar parte del programa del CIIGB. Esta actividad contribuirá a promover y acelerar ciertas investigaciones vitales y facilitará la comunicación permanente entre los investigadores de los países en desarrollo y sus colegas de otros lugares.

h) Servicios consultivos y complementarios

Una importante función del CIIGB consistirá en facilitar servicios consultivos. Esta actividad podría desarrollarse en distintas formas:

- 1) Asesoramiento sobre selección de proyectos en los laboratorios de los países en desarrollo;

- 2) Asesoramiento sobre la estrategia más adecuada para resolver un problema determinado;
- 3) Asesoramiento técnico, en particular sobre elección de métodos. El Centro distribuirá manuales de laboratorio, boletines, etc.
- 4) Asesoramiento sobre los medios de investigación necesarios para la realización de proyectos.

La ingeniería genética es una tecnología muy consumidora de bienes fungibles. Para los investigadores que se dedican a ella son sumamente importantes varios reactivos de precio elevado, como enzimas de restricción, película autorradiográfica, filtros de nitrocelulosa, isótopos de vida corta, etc. Un importante servicio que puede prestar el Centro es fabricar ciertos reactivos, como endonucleasas de restricción, y facilitarlos a los laboratorios de los países en desarrollo que no pueden adquirirlos en el comercio. El CIIGB también puede facilitar vectores, cepas bacterianas, oligonucleótidos, anticuerpos monoclonales, etc. y contribuir a la distribución de isótopos raros, caros y de vida corta, así como de productos químicos especializados. Además, un grupo de trabajo instalado en el Centro podría facilitar equipo para algunas actividades de investigación, adaptado a las necesidades del usuario.

i) Otros procedimientos

Recientemente se ha dado a conocer otro método de obtención de anticuerpos específicos. Si se conocen las secuencias de aminoácidos para un antígeno determinado, es posible sintetizar un péptido corto que sea idéntico a una región en el antígeno. Estos péptidos se pueden inyectar a los animales para obtener anticuerpos. Actualmente se dispone de métodos para la síntesis química de polipéptidos cortos. Este procedimiento se ha utilizado con éxito para producir anticuerpos específicos contra ciertos antígenos raros. Todavía no se ha evaluado a fondo su utilización posible para la fabricación de vacunas, aunque los resultados obtenidos con el VFA parecen muy alentadores.

j) Identificación de microorganismos

La ingeniería genética puede emplearse también para la identificación y la clasificación de microorganismos, y se espera que esta actividad se convierta en un proyecto esencial del CIIGB.

k) Ensayos clínicos

No incumbe al Centro la evaluación clínica de las vacunas. En esta parte del programa deberán participar, por supuesto, la Organización Mundial de la SALUD (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

Formación

El Centro deberá recibir y formar postgraduados (nivel postdoctoral), así como personal técnico. En general, los métodos que se requieren para la ejecución de este programa exigen un profundo conocimiento básico de la bioquímica, la genética y la microbiología. Importa, por consiguiente, seleccionar con todo cuidados a los candidatos a recibir formación en el Centro. Otro detalle que ha de tenerse en cuenta es que muchas actividades de este programa, para ser productivas, requieren una "masa crítica" de personal científico.

Así pues, más que dar formación a investigadores aislados de diversos países, lo importante es formar juntos equipos de investigadores y/o de técnicos. El Centro deberá también facilitar cursos de formación y manuales de laboratorio que simplifiquen la labor a los principiantes. Una vez bien organizadas las actividades en los países en desarrollo, el CIIGB tendrá que dar cursos intensivos de formación sobre temas concretos.

C. PLAN DE TRABAJO

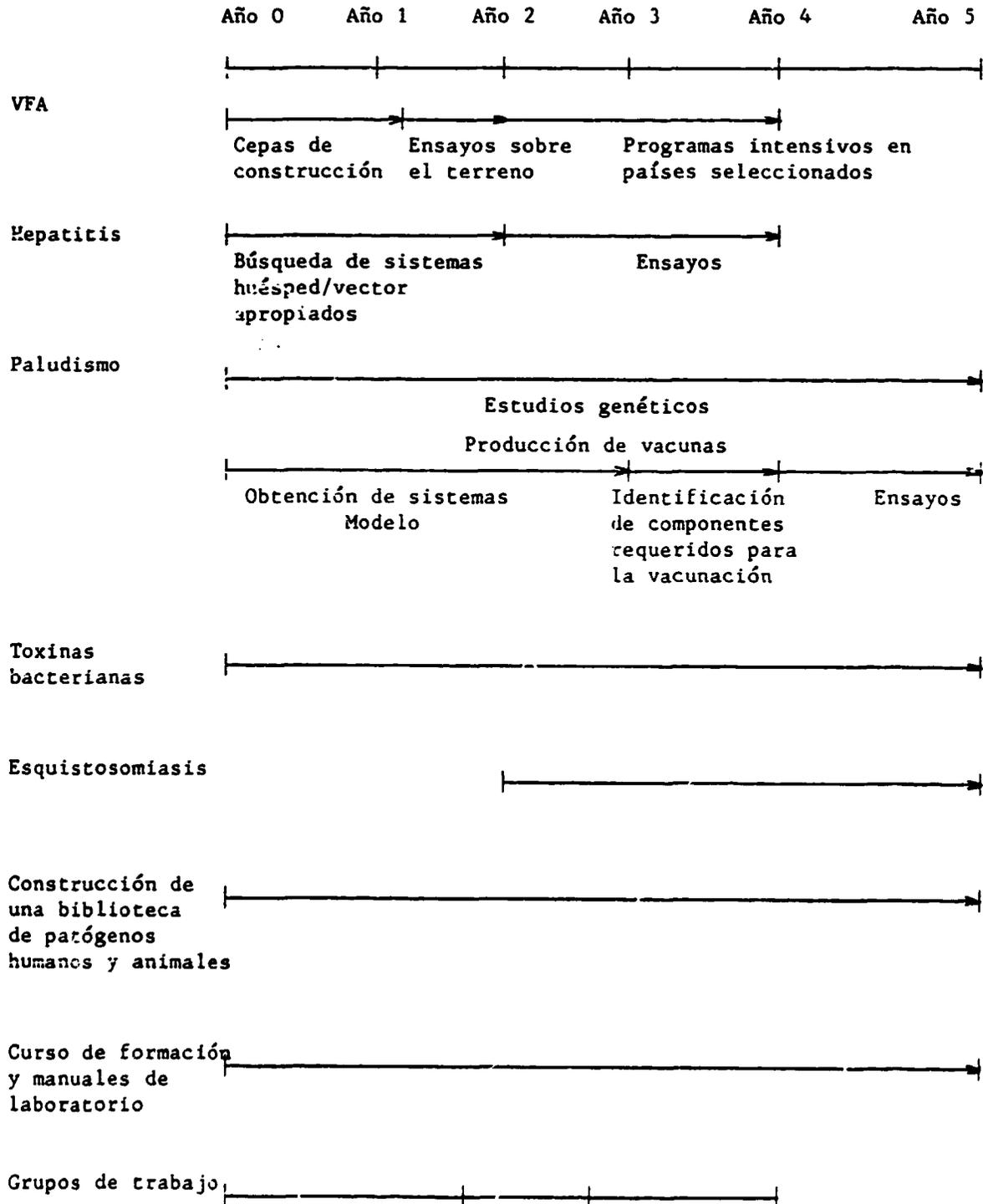
El calendario de los resultados que se obtengan en el CIIGB variará según los distintos componentes del programa, ya que algunas de las actividades que se emprendan pueden ser mucho más difíciles que otras. También habrán de ser bastante laxos en ciertos aspectos los plazos que se fijen para la obtención de productos útiles. Importa, sin embargo, que las actividades previstas en el marco del programa se inicien sin demora y que ya en el primer año sean apreciables los resultados de algunas de ellas. A continuación se da una lista de actividades y resultados previstos:

- a) El programa de formación deberá iniciarse inmediatamente con un rendimiento anual previsto del orden de cinco alumnos formados de nivel postdoctoral. Ahora bien, como estos alumnos postgraduados necesitarán por lo menos dos años para adquirir una formación suficiente en los principales sectores de este campo de estudio relativamente complejo, los primeros resultados sólo serán apreciables a los dos años del comienzo del programa. Otro importante resultado del programa es la formación de personal técnico (técnicos e ingenieros técnicos), y en el plan de trabajo se ha previsto formar anualmente dos o tres miembros de ese personal.
- b) Deberá iniciarse inmediatamente la preparación de manuales de laboratorio y durante el primer año se darán servicios consultivos en relación con actividades ya organizadas.
- c) Durante el primer año de actividad del Centro se iniciarán cursos de formación y reuniones de grupos de trabajo. Esta sección del Centro organizará uno o dos cursos anuales. La integración de diferentes programas en el CIIGB es, sin embargo, indispensable para el buen éxito del programa de formación. También se debe iniciar durante el primer año el programa de grupos de trabajo y reuniones de expertos. Esta actividad contribuirá a reforzar la plantilla de personal del Centro con investigadores de la máxima categoría. Por otra parte, es sumamente importante establecer contactos con instituciones de países desarrollados para tener noticia de cualquier investigación meritoria desde los comienzos del programa.

Para establecer un orden de prioridad entre los diferentes temas de estudio del CIIGB habrá que convocar reuniones de expertos.

- d) Habrá que empezar a prestar inmediatamente servicios con el fin de reforzar las actividades ya emprendidas y también habrá que crear una división independiente que se encargue de facilitar instrumentos de investigación (enzimas, vectores de clonación, etc.) a los laboratorios ajenos al Centro. Entre otros servicios, éste facilitará y distribuirá productos comerciales, como isótopos de vida corta, ya que muchos países en desarrollo tienen dificultades para obtenerlos en suficiente cantidad. El Centro podría también ayudar a establecer condiciones favorables para la adquisición de reactivos caros.
- e) El objetivo más importante de este programa es, por supuesto, construir microorganismos manipulados que produzcan antígenos adecuados para la vacunación. Los resultados diferirán según los proyectos, y es difícil fijar ahora plazos fidedignos habida cuenta de que los proyectos que vayan a tener la máxima prioridad en el Centro habrá de elegirlos la Junta de Asesores Científicos cuando se encuentre constituido el CIIGB. Las actividades comprendidas en este programa se centrarán probablemente en un pequeño número de proyectos principales. Por otra parte, es difícil de momento evaluar la viabilidad de los proyectos más complicados que se emprendan en el marco del programa. Sin embargo, es de esperar que pronto puedan hacerse previsiones fidedignas sobre varios de los proyectos enumerados en los cuadros 1 y 2, toda vez que se está acumulando abundante información al respecto.

Se propone el siguiente calendario:



D. COLABORACION CON OTRAS INSTITUCIONES E INTERACCION CON
LABORATORIOS CLINICOS Y DE INVESTIGACION

Una asociación estrecha con ciertos laboratorios de los Estados Unidos de América y Europa que trabajan en diversos problemas básicos de biología molecular contribuirá a mantener un nivel intelectual y técnico elevado. Entre los establecimientos más apropiados para esta interacción figuran, evidentemente, los laboratorios de los miembros del grupo consultivo (Ulf Pettersson, Universidad de Uppsala; Ray Wu, Universidad de Cornell; A.I. Bukhari, Laboratorio de Cold Spring Harbor; A. Chakrabarty, Universidad de Illinois; S. Narang, Consejo Nacional de Investigaciones del Canadá).

El CIIBG deberá colaborar estrechamente con ciertos grupos importantes de investigadores de países en desarrollo, algunos de los cuales podrán facilitar valiosos datos técnicos y material biológico de utilidad para los trabajos del Centro. Entre los grupos con los que se podría contar a este efecto cabe citar los siguientes:

Lepra - Instituto Panindio de Ciencias Médicas, Nueva Delhi;

Paludismo - Instituto de Investigaciones Médicas de Postgrado, Lahore, Pakistán;

Tripanosomiasis - Laboratorio Internacional de Investigaciones sobre Enfermedades de los Animales, Nairobi, Kenya;

Hepatitis - Un grupo de investigadores de la República Popular de China;

Fiebre aftosa - Un grupo de investigadores de Argentina.

En algunos casos, la colaboración puede ser de importancia capital para acelerar los trabajos. En el Instituto Panindio de Ciencias Médicas, por ejemplo, se han preparado varios anticuerpos monoclonales contra el Mycobacterium leprae, que pueden utilizarse para identificar y clonar los genes respecto a determinados antígenos. Teniendo en cuenta el volumen de trabajo ya realizado, será posible progresar mucho en poco tiempo hacia la solución de este problema. De igual modo, en el Laboratorio Internacional de Investigaciones sobre Enfermedades de los Animales, establecido en Nairobi (Kenya), se están haciendo estudios sobre los tripanosomas, y los grupos que allí trabajan podrían tener interés en utilizar los medios disponibles en el CIIBG.

Se fomentará la colaboración especial con los programas en curso de las instituciones internacionales, en particular la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) y algunas otras.

E. REQUISITOS PREVIOS

Como se ha señalado en una sección precedente, los investigadores que ingresen en el Centro para recibir formación habrán de ser objeto de una cuidadosa selección, ya que los trabajos de ingeniería genética exigen un conocimiento profundo de diversas disciplinas, entre ellas la bioquímica, la genética, la microbiología, la biología molecular, etc. Para que el Centro tenga éxito, es absolutamente esencial que se mantengan en él unos niveles muy elevados en materia de investigación, no sólo con miras al rendimiento físico del mismo sino también a su capacidad para reclutar personal científico extranjero de primera calidad. Así pues, la selección de los candidatos a recibir formación en el Centro tendrá que ser muy cuidadosa, correspondiendo la decisión definitiva a la Junta de Asesores Científicos del CIIGB. Los candidatos no se aceptarán solamente sobre la base de sus méritos académicos, sino que se tendrá en cuenta también su capacidad para trabajar eficazmente en el laboratorio.

Las posibilidades futuras de establecer en los países en desarrollo laboratorios de ADN recombinante dependerán de la concentración de esfuerzos. Por consiguiente, las futuras necesidades de un país determinado habrán de evaluarse en relación con las actividades emprendidas en el Centro. Por otra parte, como para iniciar con éxito actividades en una nueva institución se necesita un núcleo básico de personal experto, importa más seleccionar un grupo de investigadores para formarlos "en equipo" que dar formación a científicos aislados procedentes de países muy diversos. Así pues, la selección de los candidatos a recibir formación en el Centro se basará en lo siguiente:

1. Méritos académicos;
2. Capacidad comprobada para trabajar eficazmente en condiciones prácticas;
3. Experiencia de las actividades del CIIGB;
4. Posibilidades futuras del candidato de emprender actividades similares en su país de origen.

En cuanto a la selección de técnicos y de ingenieros técnicos para darles formación en el Centro, el factor decisivo será la necesidad futura de personal auxiliar que pueda tener un grupo de investigadores en un determinado país en desarrollo.

F. NECESIDADES FINANCIERAS

La actividad propuesta exige abundantes recursos de personal, equipo y bienes fungibles. Para llevar a cabo con éxito el programa se necesitará el personal siguiente:

1. Dos especialistas científicos principales, encargados de coordinar el programa. Estas personas deberán poseer una formación adecuada en biología molecular o en microbiología, o a ser posible en ambas disciplinas;
2. Diez especialistas científicos auxiliares;
3. Ocho técnicos; y
4. Seis becarios con grado de doctor, en su mayoría de países en desarrollo. Estos postgraduados deben tener experiencia práctica de la tecnología del ADN recombinante o de actividades científicas afines.

Los especialistas científicos deben repartirse así: especialista en química de los nucleótidos, inmunólogo, microbiólogos, biólogos moleculares y bioquímicos. En calidad de consultores se necesitarán expertos en enfermedades infecciosas, así como especialistas científicos con formación veterinaria.

Durante los primeros cinco años de actividad se espera que puedan recibir formación en el marco del plan de trabajo propuesto un total de veinte personas. En la siguiente tabla se da una estimación de los gastos operativos y de personal correspondientes a un período de trabajo de cinco años.

Presupuesto quinquenal

Personal

(40% de funcionamiento pleno el primer año y 60% el segundo año)

		(MILES DE DOLARES EE.UU.)
Especialista científico principal	8 hombres/año	600
Especialista científico auxiliar	40 hombres/año	1.800
Becarios postgraduados	24 hombres/año	576
Técnicos	32 hombres/año	<u>544</u>
Total		3.520

(MILES DE
DOLARES EE.UU.)

Administración del Centro	233,5
Personal de servicios generales	<u>703,5</u>
TOTAL PERSONAL	4.457,0

Actividades

Visitas de personal científico	64 hombres/mes	320
Reuniones de grupos de expertos	4	100
Servicios consultivos	30 hombres/mes	300
Formación	40 hombres/año	900
Material de información		30
Adquisición de productos químicos, etc.		1.040
Asociación		150
Gastos varios (viajes, teléfono, correo, etc.)		<u>138</u>
Total		2.978
TOTAL PROGRAMA DE TRABAJO		<u><u>7.435</u></u>

ANEXO I

Cuadro 1

Principales enfermedades infecciosas humanas de los países
en desarrollo para las cuales hay que producir vacunas

Paludismo
Esquistosomiasis a)
Leishmaniasis a)
Filariasis a)
Tripanosomiasis (enfermedad del sueño) a)
Lepra
Tuberculosis
Cólera b)
Enterobacterias toxígenas
Tracoma
Hepatitis B b), c)
Rabia
Hepatitis A
Poliovirus b)
Rotavirus
Arbovirus (fiebre amarilla, encefalitis, fiebre del valle
del Rift, etc.) b)
Gripe b)

a) Todavía no se sabe en todos los casos si es factible la vacunación con vacunas preparadas por métodos de ingeniería genética.

b) Se dispone de vacunas preparadas por los métodos clásicos, pero cabe esperar que pueda aplicarse la ingeniería genética para obtener vacunas mejoradas y/o más baratas.

c) Se han obtenido resultados prometedores en relación con el empleo de la ingeniería genética.

Cuadro 2

Principales enfermedades de los animales en los países en desarrollo

Evaluación de las posibilidades que ofrece la ingeniería genética para el mejoramiento de las vacunas

<u>Enfermedad</u>	<u>Categoría de importancia</u>	<u>Prioridad para la ingeniería genética en la producción de vacuna</u>
<u>A. Virosis</u>		
Fiebre aftosa	1	Alta
Peste bovina	1	Baja
Rabia	1	Alta - rabia del ganado transmitida por murciélagos
Estomatitis vesiculosa	2	Intermedia
Lengua azul	2	Alta
Cólera porcino	2	Baja
Peste porcina africana	2	Desconocida - alta en cuanto instrumento de investigación
Enfermedad equina africana	2	Alta
Encefalomiелitis equina venezolana	2	Baja
Fiebre catarral maligna	3	Baja
Adenomatosis pulmonar	3	Alta
Enfermedad de Aujeszky	3	Intermedia
<u>B. Virosis de las aves de corral</u>		
Enfermedad de Newcastle	1	Intermedia
Enfermedad de Marek	2	Baja
<u>C. Enfermedades bacterianas</u>		
Tuberculosis	1	Alta
Brucelosis	1	Baja
Infecciones por clostridios	1	Baja
Carbunco	2	Baja
Pleuroneumonía	3	Baja
Leptospirosis		
<u>D. Enfermedades por protozoos</u>		
Tripanosomiasis		Estas enfermedades, especialmente las dos primeras, tienen gran importancia económica en Africa. Las investigaciones no han progresado todavía hasta el punto de que la vacunación resulte factible. Esto acabará sucediendo, pero en ese momento habrá que evaluar muchos problemas consiguientes antes de pronunciarse acerca de la estrategia correcta. (Fuente: 'The Potential of Genetic Manipulation for the Improvement of Vaccines Against Animal Diseases in Developing Countries', UNIDO/IS.273).
Teileriosis		
Anaplasmosis		
Babesiosis		
Coccidiosis		

ANEXO II

NECESIDADES DE EQUIPO

Cuando el programa esté plenamente desarrollado deberá abarcar todas las técnicas modernas de importancia para la identificación y expresión de genes en diferentes sistemas de vector y huésped. Esas técnicas comprenden:

- a) Medios y métodos para el cultivo y la purificación de los microbios pertinentes. Esto no constituye un problema trivial en el caso de muchos microorganismos que tienen especial importancia en los países en desarrollo;
- b) Técnicas fundamentales de clonación molecular (v.g., técnicas de construcción de bibliotecas de ADN, clonación de ADNc, etc.). Habrá que adoptar como instrumentos normales de trabajo los métodos de clonación en los que se utilizan a la vez *E. coli*, *B. subtilis* y levaduras;
- c) Técnicas y reactivos para la identificación de los antígenos pertinentes; por ejemplo, anticuerpos monoclonales y policlonales, modelos animales, etc.;
- d) Técnicas para la identificación de los productos génicos pertinentes; por ejemplo traducción in vitro en combinación con inmunoprecipitación;
- e) Análisis secuencial del ADN;
- f) Métodos para la síntesis química de oligonucleótidos;
- g) Microscopía electrónica para el estudio de los ácidos nucleicos;
- h) Tecnología vectorial. Es probable que se necesiten mejores sistemas de vector y huésped eucariótico para la producción de vacunas eficaces. También es necesario establecer sistemas huésped/vector menos exigentes y poco costosos que puedan utilizarse en condiciones primitivas;
- i) Métodos de transferencia de genes (v.g., microinyección y transfección). Métodos de inmunofluorescencia;
- j) Técnicas de cultivo de tejidos;
- k) Métodos de cultivo en gran escala de microbios y purificación de antígenos. Este problema debe abordarse en el CIIGB en estrecho contacto con otros programas; y
- l) Técnicas y medios para la purificación y la preparación de vacunas estables y potentes.

En consecuencia, se necesitará el equipo siguiente:

El material pesado que se necesita en el departamento comprende:

- 4 ultracentrifugadoras;
- 5 centrifugadoras de velocidad media;

- 5 centrifugadoras de Eppendorf;
- 4 centrifugadoras de mesa de otros tipos;
- 1 máquina para fabricar hielo;
- 5 baños de María;
- 2 liofilizadores;
- 2 contadores de centelleo;
- 1 contador gamma;
- equipo de electroforesis con abastecimiento de energía para el estudio secuencial del AND;
- 3 balanzas;
- 2 congeladores (-70°);
- microscopios óptico y de fluorescencia;
- estufas;
- espectrofotómetro;
- cromatógrafo de líquidos a presión elevada (HPLC);
- pH-metro;
- horno de vacío; y
- medios de cultivo tisular y de cultivo de bacterias.

Cuadro 1

Medios de trabajo y equipo que pueden compartirse
con otros grupos en el CIIGB

- Lavaplatos y cocina;
- Material para la preparación de medios de cultivo (células animales, protozoos y bacterias);
- Material de cultivo de tejidos;
- Laboratorio de contención (P3);
- Servicio de microscopía electrónica;
- Fluoroactivador celular FACS (fluorescent activated cell sorter)
- Laboratorio de estudio secuencial de proteínas (analizadores de aminoácidos, secuencadores, etc.);
- Servicio de síntesis de oligonucleótidos (HPLC, equipo de resonancia magnética nuclear, etc.);
- Medios de síntesis de péptidos;
- Servicio de producción de anticuerpos monoclonales;
- Locales para animales;
- Cámara oscura y equipo fotográfico;
- Ordenador con sus accesorios; y
- Procesadores de textos.

