

INTRODUCCIÓN A LA BIOTECNOLOGÍA

Introducción a la Biotecnología
Sus aplicaciones y alcances

María Florencia Rossetti
Ángela Guillermina Forno
[editoras]

**UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL LITORAL**

 **ediciones UNL**

Consejo Asesor
Colección Cátedra
Alicia Camilloni
Miguel Irigoyen
Bárbara Mántaras
Isabel Molinas
Héctor Odetti
Andrea Pacífico
Ivana Tosti

Dirección editorial
Ivana Tosti
Coordinación editorial
María Alejandra Sadrán
Coordinación diseño
Alina Hill
Coordinación comercial
José Díaz

Corrección
Félix Chávez
Diagramación interior y tapa
Laura Canterna

© Ediciones UNL, 2022.

—
Sugerencias y comentarios
editorial@unl.edu.ar
www.unl.edu.ar/editorial

Introducción a la Biotecnología : sus aplicaciones y alcances / María Florencia Rossetti ... [et al.] ; Editado por María Florencia Rossetti; Ángela Guillermina Forno ; Prefacio de Raquel Lía Chan.

—1a ed— Santa Fe : Ediciones UNL, 2022.
Libro digital, PDF/A – (Cátedra)

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-749-386-3

1. Biotecnología. 2. Biología. 3. Ingeniería. I. Rossetti, María Florencia II. Rossetti, María Florencia , ed. III. Forno, Ángela Guillermina , ed. IV. Chan, Raquel Lía, pref.
CDD 570

—
©Attallah, Burns, Cabello, Campi, Cappellino, Caputto, Cardozo, Colombatti, Comelli, Follonier, Fontana, Forno, Fuselli, Gaydou, Gerard, Gugliotta, Hick, Luque, Mercanti, Muriel, Prieto, Raineri, Ramos, Re, Reidel, Reyes, Rossetti, Russi, Tossolini, Trombert, Tschopp, 2022.

© del prefacio Raquel Lía Chan, 2022.



Introducción a la Biotecnología

Sus aplicaciones y alcances

María Florencia Rossetti
Ángela Guillermina Forno

EDITORAS

Attallah · Burns ·
Cabello · Campi ·
Cappellino · Caputto ·
Cardozo · Colombatti ·
Comelli · Follonier ·
Fontana · Fuselli ·
Gaydou · Gerard ·
Gugliotta · Hick ·
Luque · Mercanti ·
Muriel · Prieto ·
Raineri · Ramos ·
Re · Reidel · Reyes ·
Russi · Tossolini ·
Trombert · Tschopp ·

ediciones UNL

CÁTEDRA

Agradecimientos

A los estudiantes de la Licenciatura en Biotecnología,
cuya curiosidad y ansias de aprender motivaron esta idea.

A todos los autores que aceptaron este desafío
con gran entusiasmo y paciencia.

A la FBCB y la UNL, por promover y estimular estas actividades
y brindar los medios necesarios.

¡Gracias por el apoyo y la dedicación!

Índice

PREFACIO / 9

CAPÍTULO 1. BIOMARCADORES MOLECULARES DE INTERÉS CLÍNICO:

INVESTIGACIÓN Y DIAGNÓSTICO / 12

Introducción / 12

Biomarcadores / 13

Importancia de los biomarcadores / 13

Búsqueda de nuevos biomarcadores / 14

 Tecnologías utilizadas para la búsqueda de biomarcadores / 15

Métodos de diagnóstico de biomarcadores moleculares / 17

Conclusiones / 19

Referencias bibliográficas / 20

CAPÍTULO 2. INGENIERÍA DE GENOMAS / 22

La Ingeniería genética y la edición de genomas / 22

Pero... para poder modificar de forma precisa un genoma primero tenemos que conocer su secuencia / 23

Técnicas para la ingeniería de genomas / 24

 La revolución CRISPR / 26

La ingeniería de genomas como herramienta biotecnológica para la producción de proteínas recombinantes / 29

Potenciales aplicaciones de la ingeniería de genomas / 29

Referencias bibliográficas / 33

CAPÍTULO 3. APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DEL CULTIVO DE CÉLULAS MADRE EN MEDICINA

TRASLACIONAL / 34

Introducción / 34

¿Cuáles son las características principales de una célula madre? / 34

¿Puede una célula somática convertirse en una célula madre? / 35

¿Cómo se define en qué tipo celular se convertirá finalmente una célula madre? / 36

¿Cómo se utilizan las CM en investigación y en el ámbito clínico? / 37

¿Por qué son tan importantes las CMH para la medicina regenerativa? / 38

 ¿De dónde pueden obtenerse las células que son infundidas? / 40

¿Qué papel cumple la biotecnología en este campo? / 40

¿Con qué herramientas cuenta la biotecnología para cumplir estos propósitos? / 41

Conclusiones / 44

Referencias bibliográficas / 44

CAPÍTULO 4. BIOTECNOLOGÍA, LA HERRAMIENTA CLAVE EN EL DESARROLLO DE NUEVAS VACUNAS / 46

Introducción / 46

Enemigos microscópicos y el sistema inmune / 46

 Los microorganismos patógenos / 46

 El sistema inmune / 48

Memoria inmunológica / 51
Vacunas, las herramientas para entrenar al sistema inmune / 52
Un poco de historia / 52
¿Qué son las vacunas? / 53
Tipos de vacunas / 53
Del laboratorio al mundo: etapas para la obtención de una vacuna / 57
Conclusión / 59
Referencias bibliográficas / 60

CAPÍTULO 5. CONTRIBUCIONES DE LA BIOTECNOLOGÍA MODERNA AL DESARROLLO DE VACUNAS VETERINARIAS / 61

Introducción / 61
Vacunas atenuadas convencionales / 64
Vacunas basadas en microorganismos modificados por ingeniería genética / 64
Vacunas inactivadas y toxoides / 65
Vacunas a subunidad / 66
Vectores virales recombinantes / 67
Vacunas a base de ácidos nucleicos (ADN/ARN) / 67
DIVA / 68
Conclusiones / 68
Referencias bibliográficas / 69

CAPÍTULO 6. ANTICUERPOS: UNA HERRAMIENTA CLAVE EN DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN / 71

Introducción / 71
Obtención del Antígeno / 73
Obtención de Anticuerpo / 75
Anticuerpos policlonales (PAbs) / 75
Producción de anticuerpos monoclonales (MAbs) / 76
Desarrollo y producción de anticuerpos policlonales / 77
Conclusiones / 78
Referencias bibliográficas / 79

CAPÍTULO 7. PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS FUNCIONALES: UNA VISIÓN DESDE LA BIOTECNOLOGÍA / 80

Introducción / 80
Desarrollo de un nuevo alimento funcional. Queso tipo <i>Fior di Latte</i> / 82
Conclusiones / 86
Referencias bibliográficas / 86

CAPÍTULO 8. BIOTECNOLOGÍA EN LA AGROINDUSTRIA: INNOVACIÓN Y VALOR AGREGADO / 88

Introducción / 88
Argentina y su relación con la agroindustria / 88
La industria aceitera en Argentina / 89
El <i>crushing</i> de soja / 89
Economía del <i>crushing</i> / 90
Biotecnología en el complejo oleaginoso / 91

Biotecnología en la harina de Soja / 91
Sobre la problemática de Salmonella en harina de soja / 91
Estrategias utilizadas para combatir la presencia de Salmonella en SBM / 93
La solución biotecnológica al problema de la Salmonella / 93
Biotecnología en el aceite de soja / 95
Composición del aceite de soja / 95
Desgomado de aceites / 96
Conclusiones / 101
Referencias bibliográfica / 101

CAPÍTULO 9. LOS PROCESOS BIOLÓGICOS EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL / 105

Introducción / 105
El ambiente, los ecosistemas y la importancia de la biodiversidad microbiana / 105
Reactores y Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental / 106
Procesos biológicos aplicados al Tratamiento de Efluentes / 107
Bioremediación de ambientes contaminados / 109
Biocombustibles, la clave para la transición energética / 111
Bioprocesos para una agricultura amigable con el Ambiente / 112
Bioplásticos y Biominería / 113
Biosensores para el diagnóstico, control y monitoreo ambiental / 114
Conclusiones y perspectivas a futuro / 115
Referencias bibliográficas / 115

CAPÍTULO 10. ¿AGRO-BIO-QUÉ? PLANTAS, CAMPO, MICROORGANISMOS Y CIENCIA / 116

Introducción / 116
Sobre los inicios del mejoramiento vegetal / 117
Sobre los marcadores moleculares / 118
Sobre la transformación de plantas y las plantas transgénicas / 119
Nuevas tecnologías: CRISPR / 120
Trabajando con cultivos / 121
OVGM sí... OVGM no... / 122
Sobre cómo hacer biotecnología vegetal sin utilizar plantas modificadas genéticamente / 122
Volver a los principios, pero con herramientas actuales / 123
La naturaleza a nuestro favor: Agroecología / 123
Consideraciones finales / 124
Referencias bibliográficas / 125

CAPÍTULO 11. BIOINFORMÁTICA E INTELIGENCIA ARTIFICIAL / 127

Introducción / 127
Bioinformática / 127
La era de las proteínas / 128
La era de los genes / 129
La era de las computadoras y el software / 130
La era del genoma e internet / 131

Inteligencia artificial / 132
Modelado del contenido / 132
Modelado del continente / 134
Aprendizaje automático / 136
Bioinformática y aprendizaje automático / 138
Comentarios finales / 139
Referencias bibliográficas / 140

CAPÍTULO 12. BIOÉTICA Y BIOTECNOLOGÍA / 142

Introducción / 142
Sobre el surgimiento y la consolidación de la Bioética / 143
La interpelación de la Bioética a los avances biotecnológicos hoy / 146
Conclusiones / 149
Referencias bibliográficas / 151

CAPÍTULO 13. EL ARTE DE COMPARTIR EL SABER CIENTÍFICO: PUBLICACIÓN Y DIVULGACIÓN / 153

Introducción / 153
La revista científica / 154
Las revistas científicas, son el principal medio de comunicación científica / 154
El artículo científico / 156
Organización del artículo científico / 156
Formas de comunicación científica / 157
Producción científica / 157
De la comunicación a los laboratorios / 157
La Comunicación pública de la ciencia y tecnología (CPCyT) / 158
Comunicación y difusión: La Divulgación Científica / 159
El periodismo científico / 165
Conclusiones / 165
Referencias bibliográficas / 166

CAPÍTULO 14. TRANSFERENCIA DEL CONOCIMIENTO CIENTÍFICO DE LA UNIVERSIDAD AL MEDIO / 167

Introducción / 167
Transferencia de conocimiento científico / 168
Modelos de transferencia del conocimiento / 169
Valle de la muerte / 173
Cadena de valor en la transferencia / 175
Propiedad intelectual / 175
Patente de invención / 176
Creación de empresas / 177
Conclusiones / 177
Referencias bibliográficas / 178

GLOSARIO / 180

SOBRE LAS EDITORAS, AUTORAS Y AUTORES / 188

PREFACIO

Estamos atravesando la última fase de una pandemia que tuvo en vilo a la población de todo el planeta y se cobró millones de vidas en los últimos dos años. Como en toda circunstancia catastrófica, es muy difícil, casi imposible, rescatar algún aspecto positivo. Sin embargo, y haciendo un esfuerzo, pudimos visualizar que durante este período se ha hecho evidente la importancia de la Ciencia en general y de la Biotecnología en particular para lidiar con un enemigo devastador. Los científicos especializados en Biotecnología salieron a dar respuestas y soluciones urgentes para aminorar los efectos nefastos de la pandemia y eso fue gracias a la formación que habían adquirido durante años en temas relacionados. Nadie conocía el virus Sars-Cov-2, por lo que mal podría haber investigaciones sobre este en particular, pero muchos sabían cómo diagnosticar la presencia de un virus, cómo determinar la secuencia del ARN invasor, cómo generar vacunas para defenderse de la infección. No menos importante fue el papel que jugaron los científicos en la comunicación masiva. Si bien la ciencia está en nuestras vidas a diario, en la electricidad, los medios de transporte, la potabilización del agua, la disponibilidad de medicamentos, el diagnóstico de enfermedades animales, vegetales y humanas, los materiales, e infinitas cosas más, las contribuciones de los científicos a que así sea no son tan visibles.

¿Qué es y por qué es tan importante la Biotecnología en nuestras vidas?

El concepto de Biotecnología es muy amplio e incluye a toda tecnología que utiliza seres vivos para producir un bien. No lo pensamos a diario pero ahí está, la cerveza que tanto apreciamos se fermenta con levaduras (organismos eucariotas unicelulares), la mayoría de las vacunas se producen en células animales o vegetales, los kits de diagnóstico requieren de la expresión de proteínas recombinantes en bacterias o células eucariotas; los alimentos que comemos a diario han sido mejorados con

técnicas biotecnológicas, muchos de los medicamentos que necesitamos se obtienen con estas metodologías, por ejemplo, la insulina. Manejar, dominar e innovar en Biotecnología requiere de conocimientos en Biología, Bioquímica, Genética y otras disciplinas relacionadas.

Existen aún inmensos desafíos que hay que encarar. Es importante que pensemos en soluciones biotecnológicas, escuchando a quienes las necesitan y no inventando problemas que no existen o no afectan al usuario (sea productor o consumidor), teniendo una mirada regional sin olvidar la universal y, sobre todo, trabajando en equipo. Además, debemos invertir parte de nuestro tiempo en divulgar, difundir y alfabetizar en Biotecnología.

¿Cuáles son los desafíos? Algunos como generar mayor productividad agrícola con menor huella ambiental, ya que la seguridad alimentaria es fundamental para la humanidad toda. Generar más y mejores medicamentos. Desarrollar métodos preventivos, de diagnóstico. Reemplazar los productos tóxicos por bioproductos amigables con el ambiente y tantos otros que surgirán en el futuro cercano.

¿Cómo se generan esas soluciones? Empezando por hacer las preguntas básicas de la Biología e investigando a nivel fundamental cómo funcionan las cosas, qué mecanismos moleculares están en juego, qué genes participan, etcétera.

Responder a esas preguntas requiere indiscutiblemente de la aplicación del método científico: observación, hipótesis, experimentación, teoría.

Hay una sola ciencia, la que se hace bien siguiendo el método científico. A veces se puede aplicar, a veces no, al menos no rápidamente.

La ciencia fundamental o básica en cada una de las disciplinas biológicas tiene un valor esencial y su rol es contestar preguntas que se nos plantean luego de hacer observaciones. La aplicación que podamos lograr de ese conocimiento a veces es inmediata, a veces es a largo plazo, a veces no se va a dar y es difícil saberlo *a priori*. Lo que es claro es que no hay aplicación posible si no hay ciencia detrás.

Hay muchos ejemplos de conocimientos que se aplicaron muchísimos años más tarde del de su adquisición; por ejemplo, la aeronáutica utiliza la famosa ley de la gravedad de Newton. Hay también proyectos largos que requieren de mucho tiempo de desarrollo e investigación. Es importante tener en claro que los éxitos no se dan fácilmente y que de todos los fracasos se aprende algo, o al menos hay que intentarlo.

Introducción a la Biotecnología demuestra estos dichos en cada uno de sus capítulos.

Empezando por los marcadores moleculares de interés clínico que requieren de conocimientos de genética, de biología molecular, de genómica humana, de la química de ácidos nucleicos. La mayoría de estos conocimientos básicos, como la estructura del ADN, no fueron adquiridos sabiendo que se iban a utilizar para hacer diagnóstico de enfermedades, sino que fueron motorizados por el amor al conocimiento en sí, en cierto modo, como se generan las artes, todas ellas. Lo mismo pasa con el cultivo de células madre y su uso en la medicina traslacional, el desarrollo de vacunas para humanos y para animales, la producción de alimentos funcionales, la agroindustria o la generación de tecnologías para el mejoramiento de cultivos. Todas son aplicaciones biotecnológicas de conocimientos básicos, en particular de la Biología, la Bioquímica y la Biología Molecular. Pero hoy en día no se queda atrás la Bioinformática y la Inteligencia Artificial que permiten predecir desde rindes de cultivos hasta la aparición de enfermedades mortales utilizando muchos datos. No tenemos que olvidarnos de la Ética que hay que aplicar en cualquier desarrollo nuevo y para eso, también, existe esa especialidad. La madre de todas las subdisciplinas es la comunicación; saber, entender y comunicar bien son los pilares de todo avance tecnológico, incluidos los biotecnológicos. Si no sabemos, si no entendemos, no comunicaremos bien, y si no comunicamos bien, se generará todo tipo de mitos y leyendas sin soporte científico, pero que ganan las redes sociales y la percepción pública haciendo daños a veces irreparables y postergando el avance de la ciencia.

En 2020 es el Covid-19 comenzó a golpearnos fuerte, a toda la humanidad, con el saldo de un número enorme y lamentable de vidas humanas perdidas. En otro momento, otra emergencia o catástrofe puede necesitar de nuestra participación activa como biotecnólogos. Esperemos que no, no queremos catástrofes para demostrar la importancia de la ciencia. Queremos contribuir a mejorar la calidad de vida en forma gradual y sin tener que responder a emergencias. Es ahí, en nuestro trabajo cotidiano en el que sumamos más.

Los biotecnólogos con sus valiosísimos conocimientos adquiridos o a adquirir podemos hacer la diferencia.

Raquel Lía Chan

1 Biomarcadores moleculares de interés clínico: investigación y diagnóstico

MARÍA FLORENCIA ROSSETTI · LUISA GAYDOU ·
ADRIANA FOLLONIER · JORGE GUILLERMO RAMOS

*Soy de los que piensan que la ciencia posee una gran
belleza. Un científico en un laboratorio no es
solamente un técnico: es también un niño puesto
frente a fenómenos naturales que le impresionan
como un cuento de hadas...*

MARIE CURIE

INTRODUCCIÓN

En la práctica clínica es necesario tener herramientas para definir si un paciente presenta o no una determinada patología, controlar su evolución y en lo posible predecir el riesgo de recidivas. A estas herramientas se las denomina biomarcadores. Estas variables pueden ser tan sencillas como registrar el peso, la presión arterial del individuo o el nivel de glucemia en sangre, o tan complejas como identificar alteraciones en los niveles y/o las estructuras de ácidos nucleicos y proteínas. Estos últimos son conocidos como biomarcadores moleculares.

Para la elección de un biomarcador se tienen en cuenta algunas características que permiten obtener valores confiables, entre ellos: especificidad, sensibilidad, estabilidad *in vivo* e *in vitro*, método de obtención de muestra no invasivo, que posea suficiente relevancia preclínica y clínica como para avalar modificaciones en el tratamiento de los procesos patológicos y en lo posible que su determinación no sea costosa. En este capítulo hablaremos brevemente acerca de los biomarcadores y su importancia y mencionaremos algunas de las técnicas más utilizadas para el estudio de los biomarcadores moleculares. Sumado a ello, explicaremos la implicancia de los mismos en investigación y describiremos algunos de los desarrollos en métodos de diagnóstico llevados a cabo en el Departamento de Bioquímica Clínica y Cuantitativa (FBCB, UNL).

BIOMARCADORES

El Instituto Nacional de la Salud (NIH, del inglés *National Institute of Health*) considera biomarcador a «aquellas características biológicas, bioquímicas, antropométricas, fisiológicas, etc., objetivamente mensurables, capaces de identificar procesos fisiológicos o patológicos, o bien una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica» (Biomarkers Definition Working Group, 2001). Por su parte, la Organización Mundial de la Salud (WHO, del inglés *World Health Organization*) establece como biomarcador a cualquier sustancia, estructura o proceso que puede medirse en el cuerpo o sus productos e influir o predecir la incidencia de resultados o enfermedades (WHO International Programme on Chemical Safety, 2001). Como último ejemplo, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, del inglés *Food and Drug Administration*) describe al biomarcador como «una característica definida que es medida como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas biológicas a exposiciones ambientales o intervenciones terapéuticas» (FDA-NIH Biomarker Working Group, 2016). Todas estas definiciones tienen algo en común: necesitan de una variable capaz de ser medida con exactitud y que esta refleje el estado normal, una probable patología o la evolución del paciente.

IMPORTANCIA DE LOS BIOMARCADORES

Una vez elegida la variable para estudiar a los pacientes, las siguientes preguntas que surgen son: ¿qué información voy a obtener de ese biomarcador?; ¿en qué situación normal o patológica va a tener utilidad? En este sentido, los biomarcadores pueden darnos diferente información que van desde la posibilidad (susceptibilidad) de desarrollar una enfermedad, hasta confirmar la presencia de subtipos de patologías (diagnóstico) y mostrar la evolución tras los diferentes tratamientos (monitoreo) (FDA-NIH Biomarker Working Group, 2016). Incluso, un mismo biomarcador puede ser utilizado con diferentes objetivos. Un ejemplo de este caso es el dosaje de la hormona Tirotrófina (TSH), que permite realizar el diagnóstico de Hipotiroidismo y al mismo tiempo controlar la evolución del tratamiento para dicha patología luego de la administración de Levotiroxina (Brenta *et al.*, 2013). Existen situaciones donde una decisión terapéutica muchas veces dependerá de la conjunción de más de un biomarcador. En el cáncer de mama, por ejemplo, se debe realizar la caracterización de tres biomarcadores moleculares en las células neoplásicas obtenidas en la biopsia (Receptores de estrógenos, de progesterona y HER2/neu). Dependiendo de la expresión o ausencia de cada uno de ellos se clasificará al cáncer en tres subtipos, se determinará el pronóstico y la respuesta a la terapia (Wolff *et al.*, 2018; Hammond *et al.*, 2010).

BÚSQUEDA DE NUEVOS BIOMARCADORES

El proceso de búsqueda de nuevos biomarcadores involucra diferentes pasos (figura 1.1), que van desde la identificación del marcador que será el centro de estudio (hipótesis), junto con el diseño del plan de investigación, hasta la obtención de muestras y datos con su posterior análisis. Una vez identificado el marcador de interés, se procede al desarrollo de un ensayo que permita cuantificarlo y que requerirá una validación clínica a fines de lograr su aprobación por entes regulatorios (Khleif, Doroshow, Hait, 2010).



Figura 1.1. Etapas de la búsqueda de nuevos biomarcadores. Adaptada de Davis *et al.*, 2020

Para la correcta identificación de un posible biomarcador, es necesario conocer la fisiopatología de la enfermedad estudiada, y cómo se asocia el marcador con la misma (Aronson, Ferner, 2017). En este sentido, se pueden utilizar dos enfoques en el estudio de biomarcadores: uno en donde se estudian los cambios asociados a una molécula específica y otro donde se estudian un gran número de moléculas y se determina cuál/cuáles se ven afectadas por la patología. En general se comparan dos poblaciones diferentes, bien caracterizadas, diseñadas de manera tal que compartan muchas cualidades (ejemplo: misma edad, sexo, origen étnico, geografía, etc.) salvo las de interés específico (por ejemplo: pacientes sanos vs pacientes con una enfermedad determinada). A su vez, también debe haber un correcto control y estandarización en la toma de muestra, procesamiento y conservación, para minimizar la variación que ocurre en esas etapas (Zhao *et al.*, 2015). Finalmente, para que un biomarcador sea reconocido como tal, se requieren de múltiples niveles/etapas de validación (figura 1.1). De esta manera, se asegura que el mismo sea confiable, preciso, estable, reproducible (validación clínica) y útil para medir, por ejemplo, una característica clínica o enfermedad, o un resultado clínico o de tratamiento (validación analítica) (Kraus, 2018; Davis *et al.*, 2020).

Tecnologías utilizadas para la búsqueda de biomarcadores

Con el avance de la genómica y la biología molecular, las nuevas técnicas de análisis *in vitro* comenzaron a incluir el análisis de alteraciones en los niveles y/o estructuras del ácido desoxirribonucleico (ADN) y del ácido ribonucleico (ARN). Estas técnicas se suman a las ya tradicionales que incluyen la determinación de proteínas y cuantificación de metabolitos, las cuales a su vez han avanzado en complejidad (Scaros, Fidler, 2005). Algunas de las técnicas más utilizadas en el estudio de biomarcadores moleculares se detallan en la tabla 1.1.

Las técnicas de genotipificación y expresión génica se basan en el estudio de cambios en la cantidad (número de copias) o calidad del ADN (mutaciones, modificaciones epigenéticas), o cambios en la expresión del ARN (ARNm, microARN, o ARN largo no codificante) de un individuo (Zhao *et al.*, 2015) (tabla 1). Un ejemplo de ello es el análisis de genes de personas sanas y pacientes con leucemia mediante técnicas de *microarreglos*, para la identificación de moléculas claves que permitan establecer por ejemplo el diagnóstico del tipo de leucemia (Hands Schuh *et al.*, 2018). Por otra parte, las técnicas proteómicas se refieren al análisis de proteínas en gran escala (tabla 1). Estas separan, identifican y caracterizan un conjunto de proteínas para determinar abundancia, ubicación, modificaciones, e interacciones entre ellas (Ilyin, Belkowski, Plata-Salamán, 2004). La espectrometría de masas,

por ejemplo, permite detectar los niveles de diversas proteínas en muestras de sangre de pacientes con patologías neurodegenerativas y trastornos psiquiátricos para así establecer posibles biomarcadores asociados (Wei, Li, 2009). Las técnicas de metabolómica tienen por objeto el estudio general de todos los metabolitos en una muestra biológica (tabla 1.1) (Laterza, Hendrickson, Wagner, 2007). Los metabolitos son compuestos de bajo peso molecular (azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos y nucleótidos), y el estudio del metaboloma facilita la determinación de perfiles metabólicos e interacciones entre distintas vías metabólicas en sistemas complejos (Ilyin, Belkowski, Plata-Salamán, 2004; Scaros, Fisler, 2005). Las técnicas empleadas para el análisis del metaboloma son muy complejas, y se asemejan mucho a las utilizadas para el análisis del proteoma, como cromatografía líquida/espectrometría de masas (Zhao *et al.*, 2015).

Tabla 1.1. Comparación del rendimiento de distintas técnicas utilizadas en el descubrimiento de biomarcadores

	Genotipificación	Expresión génica	Proteómica	Metabolómica
Bajo	Secuenciación	PCR Northern Blot		RMN GC
Medio	Espectrometría de masas	SAGE	Espectrometría de masas ELISA	LC/MS
Alto	PCR Arreglos	microarreglos de ADN	microarreglos de anticuerpos microarreglos tisulares	

PCR: reacción en cadena de la polimerasa; **SAGE:** análisis seriado de expresión génica; **ELISA:** ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas;

RMN: resonancia magnética nuclear; **GC:** cromatografía gaseosa; **LC/MS:** cromatografía líquida/espectrometría de masas. Adaptado de Scaros, Fisler, 2005.

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE BIOMARCADORES MOLECULARES

Desde que en el año 2003 el Proyecto Genoma Humano (<https://www.genome.gov/human-genome-project>) publicó la secuencia completa del ADN humano, los investigadores y científicos no han cesado en la búsqueda de información, no solo para definir la función de cada gen sino también para hallar las relaciones entre la presencia de alteraciones genéticas y el diagnóstico de enfermedades, así como también para desarrollar terapéuticas dirigidas hacia esos genes. En este sentido, la biotecnología ha aportado las técnicas necesarias para profundizar sobre el conocimiento de los marcadores genéticos y las mismas están en constante avance para obtener resultados más precisos, rápidos y a menor costo. Numerosas herramientas moleculares han surgido en los últimos años, entre ellas técnicas bioinformáticas, aislamiento de ácidos nucleicos, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), secuenciación, hibridación de sondas y clonado molecular. Esto ha permitido la identificación de diversos biomarcadores moleculares (ADN, ARN y proteínas), lo cual implica un importante avance en áreas de la Medicina. Estos métodos permiten utilizar técnicas mínimamente invasivas para detectar de manera muy precisa, y en estadios muy precoces, una determinada patología (Luu, Press, 2013; Sousa Paiva *et al.*, 2018).

En los últimos años, bioquímicos y licenciados en biotecnología del Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (Universidad Nacional del litoral) hemos estado trabajando en el desarrollo de diferentes *kits* de diagnóstico para detectar marcadores genéticos (ADN y ARNm) cuya expresión se encuentra alterada en pacientes con leucemias (ej: BCR-ABL) (Luu, Press, 2013) y otras patologías hematológicas como la trombofilia (ej. Protrombina 20210) (Sousa Paiva *et al.*, 2018). Estos *kits* contienen reactivos de diagnóstico de base biotecnológica y se basan en una metodología clásica de la biología molecular, la PCR (figura 1.2) que permite detectar y cuantificar moléculas específicas (ADN y ARNm) asociadas a las patologías estudiadas (Belavi, 2016). Entre los reactivos desarrollados en nuestro laboratorio se encuentran los calibradores, que se utilizan para la confección de curvas de calibrado, estándares de ARN de alta y baja expresión de los genes estudiados, que permiten controlar distintos pasos de la cuantificación, los oligonucleótidos, las sondas fluorescentes (ambos específicos para cada variante génica) y mixes de reactivos listos para usar durante la etapa de amplificación (figura 1.2).

Mediante el uso de estos reactivos y a partir de una muestra de sangre o tejido con una posterior extracción de ADN o ARNm, es posible amplificar y cuantificar genes específicos de interés (figura 1.3). Esta cuantificación es fundamental para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de los pacientes ya que nos permite determinar las variantes y cantidad de genes aberrantes que se expresan durante el desarrollo de diferentes enfermedades hematólogicas. A partir de esta información obtenida en el laboratorio, se establece un valor indicativo de la ausencia/presencia de una determinada patología. Así, la detección de biomarcadores moleculares ofrece la posibilidad de un diagnóstico temprano, ya que se detectan cambios en la expresión génica que generalmente anteceden a los cambios a nivel morfológico. El desarrollo de estos *kits* ha permitido sustituir las importaciones ya que muchos de los reactivos empleados en las determinaciones no se fabricaban en Argentina, implicando altos costos, largos tiempos de espera y dificultades logísticas a la hora de realizar estas prestaciones.

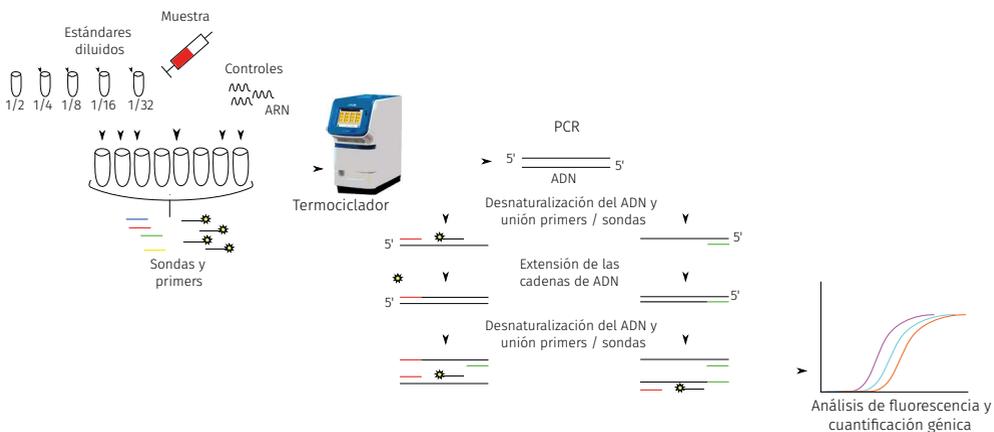


Figura 1.2. Método de diagnóstico molecular mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. En un tubo de reacción se colocan los estándares diluidos, los controles de ARN de baja y alta concentración, las sondas y oligonucleótidos junto a los reactivos de calidad

molecular y la muestra del paciente. Durante la PCR, se amplifica una región específica de un gen y la señal puede ser leída mediante el detector de fluorescencia del termociclador, para su posterior análisis y cuantificación.

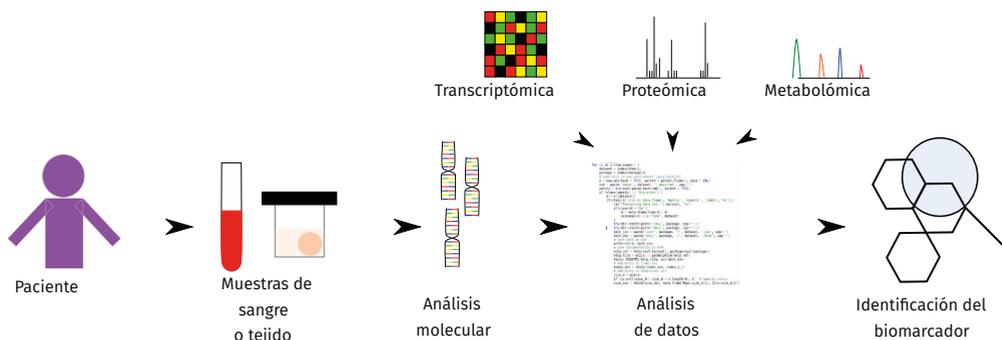


Figura 1.3. Estudio de biomarcadores moleculares para el diagnóstico y seguimiento de diversas patologías clínicas

CONCLUSIONES

Los avances científicos, particularmente en la genómica humana y la biología molecular, han llevado a desarrollar métodos de identificación, diagnóstico y seguimiento de enfermedades, basados en una nueva generación de biomarcadores relacionados con el análisis de macromoléculas. Estos análisis incluyen cambios en los niveles, estructura y actividad de moléculas como los ácidos nucleicos y proteínas. Estos métodos permiten utilizar técnicas mínimamente invasivas para detectar de manera muy precisa, y en estadios muy precoces la patología, lo cual ha permitido un importante avance en áreas de la Medicina como la oncología, hematología, inmunología, medicina regenerativa, entre otros. Cabe destacar que este tipo de herramienta no solo se limita a las ciencias médicas, si no que tiene una amplia gama de aplicación en áreas como la toxicología, la ecología, la industria alimentaria, la agricultura, la ganadería, entre otros. En este sentido, el rol de la biotecnología es clave, ya que ha aportado (y continúa aportando de manera dinámica) los conocimientos teóricos y prácticos necesarios para el avance en salud y bienestar social y económico. Aunque los costos de estas metodologías resultan elevados, sobre todo para países latinoamericanos, gracias a los científicos e investigadores cada vez son más los equipos y procedimientos accesibles económicamente que se desarrollan.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARONSON, J.; FERNER, R.** (2017). Biomarkers – A general review. *Current Protocols in Pharmacology*, 76, págs. 9.23.1–9.23.17.
- BELAVI, C.** (2016). Desarrollo de reactivos para la detección cuantitativa del gen de fusión PML–RAR mediante PCR en tiempo real. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe.
- BIOMARKERS DEFINITION WORKING GROUP** (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Therapeutics*, (69), 89–95.
- BRENTA, G.; MARIO, V.;...; HANS, G.** (2013). Guías de práctica clínica para el tratamiento del hipotiroidismo en representación del Grupo de Trabajo en Hipotiroidismo de la Sociedad Latinoamericana de Tiroides (LATS). *Arq Bras Endocrinol Metab*, 57(4), 265–298.
- DAVIS, K.; AGHAEPOUR, N.;...; PELLEYMOUNTER, M.A.** (2020). Discovery and validation of biomarkers to aid the development of safe and effective pain therapeutics: challenges and opportunities. *Nature Reviews Neurology*, (16), 381–400.
- FDA–NIH BIOMARKER WORKING GROUP** (2016). BEST (Biomarkers, Endpoints, and other Tools) Resource [Internet]. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration. Co–published by National Institutes of Health (US), Bethesda (MD).
- HAMMOND, E.; HAYES, D.;...; WOLFF, A.** (2010). American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med*, 134(6), 907–922.
- HANDSCHUH, L.; KAŻMIERCZAK, M.;...; FIGLEROWICZ, M.** (2018). Gene expression profiling of acute myeloid leukemia samples from adult patients with AML–M1 and –M2 through boutique microarreglos, real–time PCR and droplet digital PCR. *International Journal of Oncology*, 52(3), 656–678.
- ILYIN, S.; BELKOWSKI, S.; PLATA–SALAMÁN, C.** (2004). Biomarker discovery and validation: technologies and integrative approaches. *Trends in Biotechnology*, 22(8), 411–416.

- KHLEIF, S.; DOROSHOW, J.; HAIT, W.** (2010). AACR–FDA–NCI Cancer Biomarkers Collaborative consensus report: advancing the use of biomarkers in cancer drug development. *Clinical Cancer Research*, 16(13), 3299–3318.
- KRAUS, V.** (2018). Biomarkers as drug development tools: discovery, validation, qualification and use. *Nature Reviews Rheumatology*, (14), 354–362.
- LATERZA, O.; HENDRICKSON, R.; WAGNER J.** (2007). Molecular Biomarkers. *Drug Information Journal*, 41(5), 573–585.
- LUU, M.; PRESS, R.** (2013). BCR–ABL PCR testing in chronic myelogenous leukemia: molecular diagnosis for targeted cancer therapy and monitoring. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 13(7), 749–762.
- SCAROS, O.; FISLER, R.** (2005). Biomarker technology roundup: from discovery to clinical applications, a broad set of tools is required to translate from the lab to the clinic. *Biotechniques* (pp. 30–32). Apr. Suppl.
- SOUSA PAIVA, A.; DE OLIVEIRA PAIVA, H.;...; JARDIM, A.** (2018). Molecular Analysis of Factor V, Prothrombin and Methylenetetrahydrofolate Reductase in Thrombotic Patients. *Blood*, 132(1), 5050.
- WEI, X.; LI, L.** (2009). Mass spectrometry–based proteomics and peptidomics for biomarker discovery in neurodegenerative diseases. *Int J Clin Exp Pathol*, 2(2), 132–148.
- WHO INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY** (2001). Biomarkers in Risk Assessment: Validity and Validation. Retrieved from <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc222.htm>
- WOLFF, A.; HAMMOND E.;...; MITCHELL D.** (2018). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *J Clin Oncol*, 36(20), 2105–2122.
- ZHAO, X.; MODUR, V.;...; LATERZA OMAR** (2015). Biomarkers in Pharmaceutical Research, *Clinical Chemistry*, 61(11), 1343–1353.

2 Ingeniería de genomas

AGUSTINA GUGLIOTTA · ILEANA TOSSOLINI

LA INGENIERÍA GENÉTICA Y LA EDICIÓN DE GENOMAS

Todos los organismos vivos estamos compuestos por células. El material genético que se encuentra en las células se presenta en estructuras altamente organizadas de ácido desoxirribonucleico (ADN). El ADN posee una estructura de doble hélice y su secuencia está compuesta por un código de cuatro letras: A (adenina) que se empareja con la T (timina), y la C (citosina) que se empareja con G (guanina). Llamamos genoma a la totalidad del material genético de un organismo o una especie en particular. La secuencia de un genoma es similar a una biblioteca de letras. Dentro de esta biblioteca de letras, se encuentra una pequeña proporción que corresponde a genes, o secuencias que tienen alguna función determinada.

Tradicionalmente, las personas han manipulado indirectamente los genomas por medio del control de la reproducción, seleccionando la descendencia que contiene ciertas características deseadas. Un ejemplo de esto son los agricultores que a lo largo de la historia han buscado mejorar sus cultivos creando diferentes variedades de plantas, seleccionando, por ejemplo, las más productivas, las más sabrosas, las de mejor color, etcétera.

Cuando los científicos comprendieron la estructura de los genes, y cómo la información que estos llevaban se traducía en funciones o características, empezaron a buscar la manera de aislarlos, estudiarlos, modificarlos, y hasta incluso transferirlos de un organismo a otro para brindarle una nueva característica. Justamente, de eso se trata la ingeniería genética, que se podría definir como un conjunto de técnicas que permite transferir genes de un organismo a otro, de una especie a otra. El ADN que combina fragmentos de organismos diferentes se denomina ADN recombinante (ADNr). En resumidas palabras, la ingeniería genética implica la utilización de la tecnología del ADNr para alterar la composición genética de un organismo y ha permitido no solo llevar a cabo la producción de proteínas de uso terapéutico, sino también mejorar cultivos y animales, desarrollar vacunas contra virus como el de la hepatitis B o el virus del papiloma humano, producir fármacos como la insulina, obtener enzimas capaces de disolver manchas al lavar también otras muy útiles para la industria alimenticia, generar plantas resistentes a enfermedades y herbicidas, entre tantos otros ejemplos.

La era de la ingeniería genética comenzó en los años setenta. Sin embargo, los métodos de aquella época tenían dos grandes limitaciones: eran imprecisos y difíciles de aplicar a gran escala. El primer problema se solucionó en la década del 90 cuando se diseñaron unas proteínas que podían cortar el ADN en lugares bien específicos, las célebres «tijeras moleculares». Hablamos entonces de «edición de genomas», una estrategia de ingeniería genética, en la que se manipulan directamente secuencias en sitios específicos del genoma. Esta modificación directa del ADN de una célula se realiza ya sea eliminando, insertando o reemplazando alguna secuencia de interés en su genoma. Todo eso significó un gran avance con respecto a las técnicas de inserción aleatoria de ADN que se usaban hasta entonces y que dependían de la suerte para generar un cambio útil. De todas maneras, aún se tenía que diseñar una proteína específica para cada secuencia de ADN que se deseaba modificar, una tarea que era lenta y complicada. En los últimos 10 años, la ingeniería de genomas ha experimentado un avance sin precedentes que favoreció un cambio radical en las metodologías utilizadas. Distintos investigadores descubrieron un mecanismo celular en bacterias y arqueas que permite modificar el material genético con una facilidad y rapidez sin precedentes. Poco después, demostraron que este mecanismo servía para generar numerosos cambios en el genoma de cualquier organismo de forma coordinada y muy precisa. La edición de genomas y las técnicas de ingeniería genética abren un amplio abanico de aplicaciones biotecnológicas que podrían mejorar nuestra calidad de vida.

PERO... PARA PODER MODIFICAR DE FORMA PRECISA UN GENOMA PRIMERO TENEMOS QUE CONOCER SU SECUENCIA

Los genomas representan el punto de partida de las diferentes estrategias de ingeniería genética. Desde el descubrimiento del ADN como portador de la información genética de la célula, los científicos se han esforzado para decodificar letra por letra la secuencia de diversos genomas y desarrollar herramientas que permitan manipular y modificar el código genético. La secuenciación de ADN es el proceso que determina la secuencia de nucleótidos (AS, TS, CS y GS) de un fragmento de ADN. El primer genoma viral se secuenció por completo en 1976, y el primer organismo vivo que tuvo su genoma secuenciado fue la bacteria *Haemophilus influenzae*, en 1995. En los años transcurridos desde entonces, gracias a los avances en la bioinformática y al desarrollo de las técnicas de secuenciación de alto rendimiento, se ha decodificado una gran cantidad de genomas cada vez más complejos (incluyendo bacterias, hongos, plantas y animales). En 2003 se completó la secuencia del genoma humano, tras 13 años de un esfuerzo internacional sin precedentes. Los científicos lograron secuenciar, o leer, el orden de los

3000 millones de pares bases que componen nuestro genoma y esto costó cerca de U\$S 300 millones, según el Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano de EE. UU. Sin embargo, gracias a los nuevos métodos que se han desarrollado en los últimos años, ahora secuenciar un genoma es mucho más rápido, eficiente y menos costoso. Hoy en día es posible leer el genoma de una persona por unos U\$S 1000 (o menos) en apenas un día. Pero... ¿Por qué es importante que la secuenciación sea rápida y barata? La posibilidad de secuenciar genomas de forma rutinaria abre nuevas oportunidades en la investigación biotecnológica y en aplicaciones biomédicas. Hasta hace tan solo un par de décadas conocíamos muy poco de la información almacenada en los genomas y menos aún cómo modificarlos, mejorarlos o repararlos al encontrar un error. Hoy, las herramientas de secuenciación y las nuevas técnicas de edición de genomas permiten realizar cambios en el material genético con mucha precisión.

TÉCNICAS PARA LA INGENIERÍA DE GENOMAS

Las tecnologías de edición de genomas se basan en dos grandes principios. El primero es que se debe ubicar el sitio preciso del genoma (secuencia) donde se llevará a cabo el corte de la doble hebra de ADN —en inglés, «*double-strand break*» (DSB)—, y allí se podrá hacer la modificación deseada, ya sea insertando un gen de interés, o bien eliminando o mutando la secuencia existente. Para esto, hay diferentes enzimas (nucleasas) que permiten llevar a cabo dicho corte y que son cruciales para la ingeniería de genomas.

El segundo principio es el uso de los mecanismos de reparación del ADN que ocurren de manera natural en las células de organismos superiores o eucariotas con el objetivo de arreglar el DSB. Estos mecanismos pueden aprovecharse para hacer una modificación específica en el genoma. Para ello, es importante tener en cuenta que la maquinaria celular puede recurrir a dos tipos de reparación, en función del momento y de la magnitud del daño. Por un lado, en ausencia de un molde de ADN para copiar y corregir la ruptura de la doble hebra, interviene un método de reparación celular que vuelve a conectar los extremos cortados. Este mecanismo de reparación no homóloga del DSB generalmente resulta impreciso y genera los llamados *indeles* (*inserción/delección*), que son pequeños fragmentos de ADN que se insertan o eliminan en el sitio de corte y que pueden desactivar los genes implicados. Este método es conocido como reparación mediante unión de extremos no homólogos (*Non-homologous End Joining*, NHEJ). Por otro lado, la presencia de una copia de respaldo idéntica al sitio donde se produjo el corte de la doble hélice de ADN puede conducir a la activación de otro mecanismo más preciso que permitirá llevar a cabo la reparación homóloga del genoma, conectando los extremos y generando a su vez cambios específicos.

Esta copia de respaldo o ADN molde puede contener, por ejemplo, un gen con una mutación corregida o una secuencia de interés exógena (transgén) que se desea introducir en el sitio puntual donde se produjo el corte. Este mecanismo es conocido como reparación mediada por homología (*Homology Directed Repair, HDR*) (figura 2.1).

El diseño de nuevas estrategias de ingeniería de genomas se vio impulsado por la comprensión de cómo funcionan estos mecanismos de reparación del ADN, propios de las células, que a su vez favoreció la búsqueda e identificación de «tijeras moleculares», para poder cortar y modificar el genoma en una secuencia específica de manera eficiente. Esas tijeras se conocen como «nucleasas programables», y se componen de dos grandes partes: una parte endonucleasa que corta el ADN y una parte de unión al ADN específicamente diseñada para guiar a la endonucleasa hacia la secuencia puntual que se quiere editar. Después de cortar el ADN en un lugar específico la célula reparará naturalmente el corte; y en ello radica la gran utilidad de esta técnica ya que podemos manipular el proceso de reparación para hacer «ediciones» en el genoma.

Las meganucleasas fueron las primeras endonucleasas descubiertas, en los años 80, para llevar a cabo la modificación dirigida de genomas. Si bien tenían la capacidad de reconocer diferentes longitudes de secuencias (entre 12 a 40 nucleótidos), la poca flexibilidad de estas proteínas y a su vez la dificultad para modificarlas y que reconozcan nuevos sitios de corte, limitó bastante su aplicación. Esta limitación fue ampliamente superada por los nuevos tipos de nucleasas que se fueron descubriendo en los años siguientes. En los años 90 y principios de 2000 se empezaron a usar nucleasas artificiales como las denominadas dedos de Zinc (ZFNs) que reconocen de 6 a 18 nucleótidos, y las TALENs (*Transcription-Activator-Like Effector Nucleases*) que reconocen de 12 a 31 nucleótidos (figura 2.1). Aunque ambas herramientas presentan ventajas importantes, también son métodos costosos y, en general, su construcción resulta algo complicada. No obstante, la posibilidad de modificar el genoma de diversas especies condujo a que, en el año 2011 la revista *Nature* los califique como los «métodos del año».

Sin embargo, un año después una nueva tecnología comenzaba a abrirse camino en el campo de la ingeniería de genomas: la reconocida y premiada CRISPR-Cas. En este caso, la «tijera molecular» y principal protagonista es la proteína Cas, que dirigida por un ARN guía (ARNg) de tan solo 20 nucleótidos, puede reconocer específicamente una secuencia de ADN para modificarla. Es decir, el ARNg funciona como un «GPS» que ayuda a Cas para que encuentre, en todo el genoma, la dirección a la cual debe llegar. De esta manera, Cas ejercerá su actividad endonucleasa y generará el DSB en el sitio indicado. Luego, la maquinaria de reparación celular podrá arreglar esa ruptura mediante las vías HDR o NHEJ. La tecnología CRISPR-Cas superó rápidamente a las metodologías previas ya que ofrece una mayor flexibilidad y facilidad de diseño, con la posibilidad de modificar cualquier secuencia de ADN en genomas de

diversas especies. A su vez, su uso es más económico, rápido y eficiente. Por estos factores, CRISPR–Cas se ha convertido en una de las tecnologías con mayor potencial en la edición de genomas, y hoy en día es la técnica más elegida por la comunidad científica y la industria biotecnológica.

La revolución CRISPR

Las secuencias repetidas que más tarde se conocerían como CRISPR fueron identificadas por primera vez por un grupo de microbiólogos japoneses en 1987 (Ishino *et al.*, 1987), y luego de forma independiente por el científico español Francis Mojica (Universidad de Alicante) en 1993 (Mojica, Juez, Rodríguez–Valera, 1993). Mojica encontró en el ADN de microorganismos procariontes una repetición de secuencias que le resultó inexplicable y sospechosa, a las cuales bautizó como «repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas» o CRISPR por sus siglas en inglés (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*). Es decir, CRISPR estaba formado por secuencias palindrómicas (secuencias que se leen igual de izquierda a derecha y en sentido opuesto, como «somos» o «reconocer»), espaciadas entre sí por otras secuencias de ADN. En el año 2003, Mojica estableció la relación entre CRISPR e inmunidad, al darse cuenta de que las secuencias CRISPR y los espaciadores asociados podían formar parte de algún sistema inmune propio de estos microorganismos procariontes (Mojica *et al.*, 2005; Horvath, Barrangou, 2010), confirmándolo finalmente al determinar que las secuencias espaciadoras provenían del genoma de diversos virus. El investigador español pudo determinar que los organismos procariontes incorporan estas secuencias extrañas a su genoma para luego reconocerlas rápidamente frente a una nueva infección viral. Más tarde, se vio que en la vecindad de CRISPR se encuentran unos genes asociados a estas secuencias que se denominaron cas (en inglés, *crispr associated system*), los cuales codifican para diferentes proteínas nucleasas. Se han identificado numerosas nucleasas Cas en el genoma de diversos organismos procariontes, las cuales fueron diferenciadas mediante el uso de números (Cas9, Cas12, Cas13, etc.). Los científicos han realizado modificaciones a estas proteínas Cas para aumentar la especificidad del sistema. Muchas de ellas tienen la capacidad de llevar a cabo el corte de la doble hélice de ADN (siendo Cas9 la más usada), otras solamente realizan un «nick» (corte en una sola de las hebras), mientras que existen otras variantes que solo se dirigen y posicionan sobre la secuencia de ADN complementaria al ARN guía correspondiente, sin cortar el ADN.

En resumen, este sistema reconoce y corta ADN viral, integrando partes de él entre las secuencias CRISPR del genoma bacteriano. Como resultado, la célula produce ARN complementario al ADN vírico y lo ensambla con proteínas Cas. Si ese virus intenta infectar de nuevo a la bacteria, este ARN «reconoce»

el genoma del virus y, a continuación, la proteína Cas se encarga de cortar y destruir las secuencias identificadas como extrañas, evitando que la infección progrese. Por ello, las secuencias CRISPR junto con la nucleasa Cas forman parte del sistema inmune de bacterias, permitiéndoles defenderse frente a una infección viral (figura 2.1).

El siguiente gran paso se dio en 2012, cuando las científicas Jeniffer Doudna y Emmanuelle Charpentier (Universidad de California Berkeley), quienes estaban estudiando en profundidad este mecanismo de inmunidad bacteriana, tuvieron su «momento Eureka». Identificaron los elementos mínimos del sistema descubierto por Mojica con los que se podría cortar el ADN, programando el sistema CRISPR–Cas para editar cualquier genoma de forma muy precisa (Jinek *et al.*, 2012). Al año siguiente, el grupo de investigación liderado por Feng Zhang (*Broad Institute*, Universidad de Harvard y MIT) adaptó y demostró la utilidad de esta tecnología para la edición de genomas de células complejas, como las de ratones y humanos (Cong *et al.*, 2013).

En síntesis, la clave para el funcionamiento de esta herramienta de ingeniería de genomas consiste en transferir a las células que queremos modificar, por un lado, la proteína Cas (o bien el material genético que codifica para Cas) y por otro, el ARNG (ya sea en forma de ADN o ARN). Para hacer el corte en la doble hebra del ADN, la nucleasa Cas se pone a trabajar junto con el ARNG, que la dirige hacia una secuencia específica de ADN (secuencia *target*) complementaria a los 20 nucleótidos presentes en el ARNG. Pero, un pequeño detalle, la Cas solamente puede cortar el ADN *target* si al lado este tiene una pequeña secuencia de tres nucleótidos llamada «motivo adyacente al protoespaciador» (PAM, por sus siglas en inglés).

CRISPR–Cas constituye una herramienta molecular simple, versátil, eficiente y accesible (de bajo costo), que puede ser implementada prácticamente en cualquier laboratorio biotecnológico sin necesidad de disponer de equipamiento sofisticado. La explosión de esta tecnología se dio hacia el año 2015, siendo considerada «el descubrimiento del año» por la revista *Science*. Múltiples laboratorios ubicados alrededor del mundo comenzaron a usar esta técnica como reemplazo de las metodologías anteriores, obteniendo resultados prometedores en diferentes especies con aplicaciones muy diversas. Entre ellas podemos mencionar el estudio de la función de diferentes genes, corrección de mutaciones causantes de enfermedades hereditarias, generación de *kits* para el diagnóstico de enfermedades, mejoramiento de cultivos agrícolas, entre tantas otras.

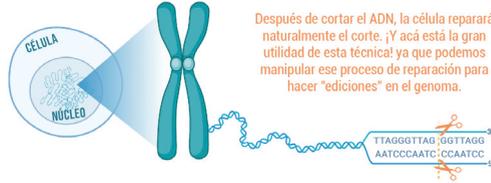
Esta convergencia entre la ciencia inspirada en la curiosidad y el creciente avance de la ingeniería genética llevó a las científicas Doudna y Charpentier a ganar en 2020 el tan esperado Premio Nobel de Química, «por el desarrollo de un método para la edición genómica», según anunció la Real Academia de Ciencias de Suecia. Sus descubrimientos han «revolucionado las ciencias de la vida», dijo la Academia durante el anuncio.

TECNOLOGÍAS DE EDICIÓN DE GENOMAS



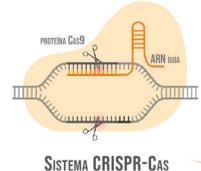
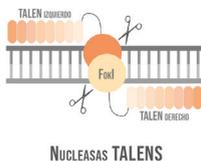
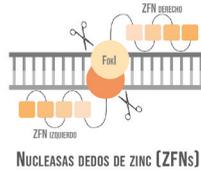
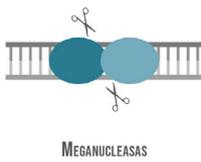
ESTAS TECNOLOGÍAS HACEN POSIBLE EDITAR EL ADN DE UN ORGANISMO, PUDIENDO ELIMINAR, AÑADIR, MODIFICAR O REEMPLAZAR GENES EN LUGARES ESPECÍFICOS DEL GENOMA.

SE UTILIZAN LAS «NUCLEASAS PROGRAMABLES», MÁS CONOCIDAS COMO «TIJERAS MOLECULARES», YA QUE TIENEN UNA PARTE QUE CORTA AL ADN Y UNA PARTE DE UNIÓN AL ADN, QUE SE DISEÑA ESPECÍFICAMENTE PARA GUIAR A LA NUCLEASA HACIA LA SECUENCIA PUNTUAL QUE QUEREMOS EDITAR.



Después de cortar el ADN, la célula reparará naturalmente el corte. ¡Y acá está la gran utilidad de esta técnica! ya que podemos manipular ese proceso de reparación para hacer "ediciones" en el genoma.

CUATRO TIPOS DE «NUCLEASAS PROGRAMABLES»



EN EL AÑO 2015 LA REVISTA SCIENCE CONSIDERÓ A CRISPR "EL DESCUBRIMIENTO CIENTÍFICO DEL AÑO"



La explosión de CRISPR se dio luego de 2012, superando rápidamente a las otras tecnologías

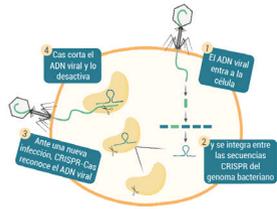
En 2020, las investigadoras Doudna y Charpentier ganaron el tan esperado Premio Nobel de Química, «por el desarrollo de un método para la edición del genoma»: CRISPR-Cas. Sus descubrimientos han «revolucionado las ciencias de la vida».

El sistema CRISPR-Cas es:

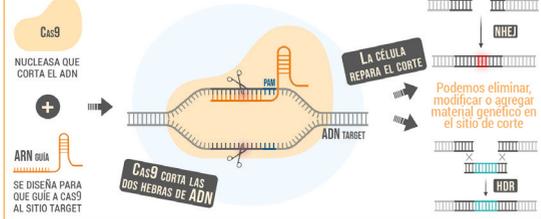
- EFICIENTE
- FLEXIBLE
- ECONÓMICO
- RÁPIDO

siendo la técnica más elegida por la comunidad científica y la industria biotecnológica

CRISPR-CAS SE BASA EN EL SISTEMA NATURAL DE DEFENSA DE BACTERIAS Y ARQUEAS FRENTE A LOS VIRUS



¡CRISPR EN ACCIÓN!



LOS CIENTÍFICOS ADAPTARON ESTE SISTEMA PROCARIÓTICO PARA EDITAR CUALQUIER GENOMA EN EL LABORATORIO

- MEJORAMIENTO DE CULTIVOS
- INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y BIOTECNOLÓGICA
- TERAPIA GÉNICA
- APLICACIONES
- CONTROL DE PLAGAS
- INDUSTRIA ALIMENTARIA Y BIOCOMBUSTIBLES
- EDICIÓN DE EMBRIONES HUMANOS

Figura 2.1. Infografía ingeniería de genomas. Revolución CRISPR-Cas

LA INGENIERÍA DE GENOMAS COMO HERRAMIENTA BIOTECNOLÓGICA PARA LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES

La ingeniería de genomas permite la modificación de diversos organismos que serán los encargados de producir un producto de interés mientras que, la ingeniería genética se utiliza para expresar genes de interés (producir las proteínas para las cuales estos genes codifican) en organismos diferentes al de origen (que hacen de «huésped»). Las proteínas producidas mediante el uso de esta tecnología son llamadas «proteínas recombinantes».

Previamente al desarrollo de la tecnología del ADN recombinante, la obtención de proteínas terapéuticas se realizaba mediante su purificación a partir de fuentes naturales. Por ejemplo, la insulina, se aislaba del páncreas de animales, y la hormona de crecimiento humana (hGH) se obtenía a partir de glándulas pituitarias de cadáveres humanos. Estos procedimientos tenían ciertas limitaciones, como la poca cantidad de proteína que se lograba obtener y la presencia de contaminantes derivados de la fuente natural, que provocaban enfermedades graves a los pacientes durante el tratamiento. Así, la producción de proteínas recombinantes surgió frente a esta necesidad de contar con elevadas cantidades de productos terapéuticos de mayor pureza. En el año 1978, se llevó a cabo el clonado y expresión del gen de la insulina humana en bacterias, obteniéndose la insulina humana recombinante.

Las metodologías de ingeniería de genomas han permitido modificar diferentes vías metabólicas de los huéspedes para incrementar la productividad de la proteína de interés.

Además, la ingeniería genética permite llevar a cabo la modificación de la secuencia de las proteínas con el fin de mejorar su efectividad. Por ejemplo, algunas proteínas utilizadas en la industria farmacéutica han sido editadas para incrementar su eficacia terapéutica, obteniéndose así un producto nuevo. También, se ha llevado a cabo la producción de anticuerpos de tamaño reducido (anticuerpos de cadena simple) que resultan ser más eficientes como herramientas de diagnóstico y tratamiento. Estas proteínas, que no existen en la naturaleza, solo pueden obtenerse de manera recombinante, siendo la ingeniería de genomas una herramienta indispensable para su producción.

POTENCIALES APLICACIONES DE LA INGENIERÍA DE GENOMAS

Desde el descubrimiento de las tecnologías de ADN recombinante y su aplicación para la solución de diversos problemas biológicos, médicos o agrícolas hasta la actualidad, se ha avanzado a pasos agigantados en el desarrollo de las técnicas de ingeniería genética, obteniéndose métodos más eficaces, precisos y económicos que están revolucionando la biología moderna. Si bien

las herramientas de edición de genomas ZFNs y TALENs han sido utilizadas para múltiples aplicaciones, el sistema CRISPR-Cas llegó para quedarse. Las posibilidades que ofrece CRISPR-Cas parecen ilimitadas al abrir las puertas del genoma como nunca antes. Es una herramienta biotecnológica muy potente, que nos posibilitará avanzar a una velocidad impensable en el conocimiento científico, y sin dudas modificará el mundo biológico tal y como lo conocemos, incluido el ser humano y su futuro genético.

En el área de la investigación básica, con CRISPR-Cas se pueden generar varios mutantes de un mismo gen, permitiendo así estudiar específicamente qué partes de su secuencia son cruciales para su función. Por ejemplo, se han editado genes en mariposas para ver su rol en la formación de los diferentes patrones de colores en las alas (Zhang, Mazo-Vargas, Reed, 2017).

No cabe duda del valor de esta herramienta en la biotecnología industrial, para mejorar el rendimiento de procesos, como ser la producción de combustibles o de biomateriales. También es clave su empleo en sectores como la ganadería y la agricultura, para el mejoramiento de cultivos con mayor rendimiento, tolerantes a la sequía y aptos para el crecimiento en condiciones limitantes de nutrientes. Además, se ha puesto el foco en mejorar las características nutricionales de los mismos. Por ejemplo, se ha logrado disminuir el contenido de gliadinas en un trigo editado con CRISPR-Cas (Sánchez-León *et al.*, 2018). Las gliadinas son el componente fundamental del gluten. Así, ese trigo modificado resulta más adecuado para que personas con celiaquía lo consuman.

Los organismos habitualmente denominados como «transgénicos», por ejemplo, se producen a través de la inserción de un gen de un organismo determinado en el genoma de otro. Pero en este caso, esta información adicional se inserta al azar sin poder elegir el lugar puntual del genoma donde se quiere introducir el transgén. En cambio, con CRISPR-Cas, sí se puede. Sus defensores sostienen que resulta biológicamente menos perjudicial que las técnicas tradicionales de mejora practicadas desde hace muchos años. Los reguladores tienden a opinar lo mismo. Los «alimentos CRISPR» podrían cambiar el debate sobre los productos genéticamente modificados.

El grado de precisión con que CRISPR-Cas permite editar el genoma de un organismo, condujo a pensar en la posibilidad de utilizar esta metodología para terapia génica. En la actualidad, se conocen diversas enfermedades causadas por mutaciones puntuales de determinados genes, tal es el caso de ciertas anemias, la fibrosis quística, la enfermedad de Huntington que afecta al sistema nervioso, entre otras.

Por un lado, con CRISPR se optimiza la generación de modelos animales para entender, por ejemplo, las bases genéticas de una enfermedad. Se ha trabajado en la generación de modelos animales portadores de enfermedades hereditarias causadas por una mutación, para luego estudiar cómo se transmite a la descendencia y evaluar los posibles tratamientos (entre los cuales podrían incluirse la corrección de la mutación mediante el uso de

CRISPR-Cas). Por ejemplo, se ha identificado que la mutación del gen *Cryg* en ratones, ocasiona cataratas. Mediante el uso de la ingeniería de genomas se logró corregir esta mutación en el 30 % de los ratones y evitar que se transmita a la descendencia (Wu *et al.*, 2013). En otro estudio (Amoasii *et al.*, 2018), se emplearon perros para estudiar y tratar de revertir la Distrofia muscular de Duchenne, un trastorno hereditario caracterizado por debilidad muscular progresiva. Este modelo en perros, en comparación con ratones, muestra características clínicas y patológicas similares a la enfermedad en las personas.

Por otra parte, desde hace unos años se ha comenzado a utilizar CRISPR-Cas en humanos para corregir mutaciones causantes de enfermedades genéticas. Actualmente, los ensayos clínicos que están en marcha abarcan diferentes áreas de tratamiento para trastornos de la sangre, cánceres, enfermedades oculares hereditarias, diabetes, enfermedades infecciosas e inflamatorias. La mayoría de estos ensayos clínicos aplican estrategias *ex vivo*. Esto implica aislar las células defectuosas del paciente (por ejemplo, de su sangre), editarlas en el laboratorio y, una vez verificada la modificación deseada, transferirlas nuevamente al paciente. Este proceso tiene la ventaja de que se pueden seleccionar solo las células efectivamente editadas, que tengan exactamente la modificación prevista, y descartar aquellas que hayan incorporado mutaciones imprevistas (no deseadas). Los primeros ensayos clínicos *ex vivo* que fueron aprobados usaron CRISPR-Cas para tratar la β -talasemia y la anemia falciforme. Por otro lado, la edición también puede realizarse *in vivo*, es decir directamente en el paciente, mediante la transferencia de las herramientas necesarias para introducir la modificación deseada en el órgano afectado. El primer ensayo *in vivo* aprobado administra los componentes del sistema CRISPR-Cas directamente en la retina de los pacientes para tratar una enfermedad de origen genético que provoca ceguera desde los primeros años de vida. En este caso, si se editan suficientes células que produzcan la proteína funcional, la esperanza es que los pacientes recuperen en gran medida o por completo su visión. Sin embargo, hay que tener en cuenta que las estrategias *in vivo* pueden ser riesgosas, por la imposibilidad de controlar y monitorear genéticamente todo el proceso en el paciente. Por ello estos tipos de ensayos se encuentran aún en etapas iniciales.

En 2015 se presentaron por primera vez resultados obtenidos luego de la edición genómica con CRISPR-Cas en embriones humanos no viables (triploides). Un año más tarde, se aprobó la primera investigación en el Reino Unido en embriones humanos «sanos» para estudiar la infertilidad humana y los estadios iniciales del desarrollo, pero con la resolución explícita de que no se implantarían tales embriones. Estos estudios abrieron la «caja de Pandora» sobre el futuro de esta técnica y diversas voces se elevaron pidiendo la suspensión de estos experimentos. La corrección de genes (*gene editing*) en los embriones humanos podría impedir algún día que los hijos hereden de los padres algunas enfermedades genéticas graves. Pero, aun

cuando la tecnología esté madura, la comunidad científica y diversos comités de ética postulan que, inicialmente, debería restringirse su uso a casos muy concretos y no para crear, por ejemplo, «bebés de diseño».

Sin embargo, el investigador chino He Jiankui, sorprendió al mundo a fines de 2018 cuando anunció el nacimiento de dos bebés cuyo ADN había sido modificado con CRISPR-Cas: los primeros seres humanos nacidos con cambios hereditarios en sus genomas. El objetivo del mencionado experimento fue evitar que los bebés contraigan HIV, enfermedad que padecía uno de sus progenitores. La creación de los primeros bebés humanos editados genéticamente despertó una enorme controversia, y no solo condujo a He Jiankui a la condena generalizada por la comunidad científica, sino también a una sentencia de tres años de cárcel.

Por otro lado, debido a la gran escasez de órganos humanos disponibles para trasplantes, se ha pensado en usar CRISPR-Cas con el fin de modificar cerdos para que sus órganos (principalmente riñones, corazón e incluso pulmones) sean aptos y seguros para usarse en humanos, evitando rechazos y otros tipos de ataques inmunitarios una vez trasplantados. Para alcanzar este propósito, se han realizado numerosos experimentos en animales, por ejemplo trasplantando los órganos modificados de cerdos en monos. A principios de 2022 se llevó a cabo un procedimiento histórico: un hombre de 57 años se convirtió en la primera persona en recibir un corazón de cerdo genéticamente modificado con el sistema CRISPR-Cas. Si bien el trasplante fue exitoso, hubo complicaciones posteriores, por lo cual médicos y científicos continúan perfeccionando la técnica para reducir los riesgos y así poder iniciar ensayos clínicos en humanos en los próximos años.

Las aplicaciones son muy variadas, por ejemplo, el grupo de Feng Zhang creó un *kit* de diagnóstico basado en CRISPR para detectar enfermedades como el dengue, el zika o la infección por el virus del papiloma humano. Este *kit* funciona de forma similar a un simple test de embarazo: consiste en una tira de papel que, en presencia de sangre u orina, muestra a simple vista una raya, o dos en el caso de que el resultado sea positivo. Recientemente, la pandemia de COVID-19 impulsó obviamente la adaptación de estos *kits* a la detección de SARS-COV-2, luego de conocerse el genoma de este coronavirus.

Hasta aquí hemos descripto las notables ventajas demostradas por el sistema de edición de genomas CRISPR-Cas. Sin embargo, no todo es color de rosa, y es importante tener en cuenta que el empleo de CRISPR-Cas para la edición de genomas puede tener consecuencias imprevisibles a largo plazo, por ejemplo, puede conducir a que se originen mutaciones o cambios indeseados que, en ocasiones, podrían ser muy peligrosos. Por eso, hasta que no se logre un alto nivel de precisión y se conozca en profundidad este sistema, debe haber mucha prudencia en el uso del mismo. Se debe promover un empleo responsable de estas técnicas y debemos trasladar estos potenciales a la clínica humana cuando sean efectivamente seguros. La apertura al debate bioético es fundamental para poder evaluar con rigor científico

los proyectos de investigación y sus objetivos finales. También es necesaria la participación activa de los medios de comunicación y de la sociedad en general, para transmitir y compartir información clara, que nos empodere a decidir, de manera de garantizar los principios de justicia y equidad para todas las personas, a nivel mundial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMOASII, L.; HILDYARD, J.C.W.;...; OLSON, E.N. (2018). Gene editing restores dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *Science*, 362(6410), 86–91.
- CONG, L.; RAN, F.A.;...; ZHANG, F. (2013). Multiplex genome engineering using CRISPR–Cas systems. *Science*, 339(6121), 819–823.
- DOUDNA, J.A.; CHARPENTIER, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR–Cas9. *Science*, 346(6213), 1258096.
- HORVATH, P.; BARRANGOU, R. (2010). CRISPR–Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science*, 327(5962), 167–170.
- HSU, P.D.; LANDER, E.S.; ZHANG, F. (2014). Development and applications of CRISPR–Cas9 for genome engineering. *Cell*, 157(6), 1262–1278.
- ISHINO, Y.; SHINAGAWA, H.;...; NAKATA, A. (1987). Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *Journal of Bacteriology*, 169(12), 5429–5433.
- JINEK, M.; CHYLINSKI, K.;...; CHARPENTIER, E. (2012). A programmable dual–RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337(6096), 816–821.
- MOJICA, F.; JUEZ, G.; RODRÍGUEZ–VALERA, F. (1993). Transcription at different salinities of *Haloferax mediterranei* sequences adjacent to partially modified PstI sites. *Molecular Microbiology*, 9(3), 613–621.
- MOJICA, F.; DÍEZ–VILLASEÑOR, C.;...; SORIA, E. (2005). Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *Journal of Molecular Evolution*, 60(2), 174–182.
- SÁNCHEZ–LEÓN, S.; GIL–HUMANES, J.;...; BARRO, F. (2018). Low–gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR–Cas9. *Plant Biotechnology Journal*, 16(4), 902–910.
- WU, Y.; LIANG, D.;...; LI J. (2013). Correction of a genetic disease in mouse via use of CRISPR–Cas9. *Cell Stem Cell*, 13(6), 659–662.
- ZHANG, L.; MAZO–VARGAS, A.; REED, R.D. (2017). Single master regulatory gene coordinates the evolution and development of butterfly color and iridescence. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 114(40), 10707–10712.

3 Aplicaciones biotecnológicas del cultivo de células madre en medicina traslacional

ANTONELA FUSELLI · LUISINA A. CAPPELLINO ·
CLAUDIO C. PRIETO

INTRODUCCIÓN

El organismo humano vive en constante equilibrio y cada segundo, millones de células jóvenes son producidas con el fin de mantener a los tejidos funcionando correctamente o repararlos en caso de daño o enfermedad. Estos eventos de renovación y reparación tienen como protagonistas a las células madre. Estas han sido objeto de estudio durante muchos años con el fin de comprender los procesos de desarrollo y crecimiento de los organismos y con la perspectiva de ser utilizadas en terapia celular y medicina regenerativa. En este contexto, los avances en el área de la biotecnología demuestran el constante esfuerzo que se realiza por acortar la brecha que existe entre los logros obtenidos en el ámbito académico y su aplicación en el campo de la medicina.

¿CUÁLES SON LAS CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE UNA CÉLULA MADRE?

Las células madre (CM) presentan dos grandes atributos: pueden dividirse para generar células hijas semejantes a la de origen (*autorenovación*) y para dar lugar a células especializadas con características y funciones específicas (*diferenciación*). Esa capacidad de dar origen a diversos tipos celulares se denomina *potencialidad*.

Así, durante la división celular las CM pueden generar de manera alternativa dos células hijas semejantes a ella misma, o dos más diferenciadas (divisiones simétricas), o bien una de cada tipo (división asimétrica). Sin embargo, existe un compromiso entre el grado de diferenciación y la potencialidad. Es decir, a medida que las CM se dividen y sus células hijas van adquiriendo características propias de un tejido específico en las sucesivas divisiones, estas van perdiendo potencialidad, comprometiéndose a un *linaje** particular.

Dado que existe, no uno, sino diversos tipos de células madre, desde la ciencia se busca definir criterios que permitan identificarlas y clasificarlas facilitando su estudio. Uno de los criterios más utilizados para la clasificación de CM es su potencialidad.

Se define al ovocito fecundado (cigoto) como célula *totipotente*, dado que origina no solo todos los tejidos embrionarios, sino también los extraembrionarios necesarios para la asociación con la madre y la formación de un individuo completo. Las células madre embrionarias, en cambio, se denominan *pluripotentes* ya que conducen a la formación de todos los tejidos del embrión propiamente dicho, pero no de los tejidos extraembrionarios. Luego, la maduración del embrión dará origen a las células madre *multipotentes*, capaces de producir tipos celulares pertenecientes a una misma *capa germinal**, a un mismo sistema de órganos o tejidos, y que se encuentran más especializados. Así, se generan células cuya morfología y función es tejido-específica, denominadas *somáticas*. Ejemplos de ellas son: las neuronas en tejido nervioso, los cardiomiocitos en el corazón o hepatocitos en el hígado.

En un organismo completamente desarrollado también es posible encontrar células madre multipotentes, llamadas *adultas*. Estas tienen la importante función de permitir que los órganos o tejidos en los que residen repongan o reemplacen células que se pierden por daño o por el funcionamiento diario del cuerpo, a la vez que mantienen una población de células indiferenciadas como reserva para suplir la demanda a lo largo de toda la vida. Así, permiten responder a cambios que ocurren en el organismo, manteniendo la *homeostasis** del mismo. Se caracterizan por poseer una capacidad de diferenciación más restringida y se encuentran alojadas en distintos órganos como médula ósea, piel, cerebro, intestinos, hígado, tejido adiposo, cartílagos, córnea del ojo y también en la sangre de cordón umbilical.

Por último, existe una población de *CM unipotentes* cuya existencia se conoce hasta el momento en algunos sistemas como el corazón y el sistema nervioso central y que solo puede diferenciarse hacia un tipo de células maduras.

¿PUEDE UNA CÉLULA SOMÁTICA CONVERTIRSE EN UNA CÉLULA MADRE?

Hace 20 años la respuesta a esta pregunta hubiera sido negativa, dado que hasta ese momento se sabía que las células diferenciadas perdían su potencialidad al adquirir características necesarias para su función en un tejido. En 2006, sin embargo, un grupo de investigadores liderado por Shin'ya Yamanaka demostró que esto sí es posible si se insertan en estas células somáticas cuatro genes capaces de restaurar su potencialidad (*Oct4*, *c-Myc*, *Sox-2* y *Klf4*). Esta tecnología, llamada reprogramación celular, fue probada inicialmente en fibroblastos (células de la piel) y logró revertir su estadio diferenciado e inducir en ellos un estado pluripotencial similar al que poseen las células embrionarias. De allí el surgimiento del término *célula madre pluripotente inducida* o *iPSC* por sus siglas en inglés (*induced Pluripotent Stem Cell*).

Una de las ventajas de la generación de iPSC es que es posible obtener células capaces de dar origen a todos los tipos celulares partiendo de células somáticas de distintos tejidos, incluyendo algunos tipos de células sanguíneas. Estas células tienen la información genética propia del paciente del que fueron extraídas, lo que resulta una oportunidad sin precedentes de estudiar el efecto de drogas en diversos modelos de enfermedad, estudiar enfermedades en casos en los que la limitante es el número de células y descubrir nuevos medicamentos y terapias de trasplante celular. Otra de las ventajas, reside en que el uso de iPSC puede reemplazar en algunos casos el uso de CM embrionarias cuya obtención y manipulación están sujetas a diversos cuestionamientos bioéticos. Como contraparte, las iPSC, del mismo modo que las CM embrionarias, no pueden aplicarse en forma directa en un tratamiento de trasplante, ya que debido a su alta capacidad proliferativa y pluripotencialidad es probable que produzcan tumores en lugar de generar las células específicas que se requieren para el tratamiento. Asimismo, en el caso de las iPSC, puede incrementarse el riesgo de expresión de *oncogenes** por la reprogramación. Entonces, ambos tipos de CM pluripotentes deben ser inducidos a convertirse en células ya especializadas específicas fuera del organismo (*ex vivo*), lo cual puede ser difícil (Yamanaka, 2020).

¿CÓMO SE DEFINE EN QUÉ TIPO CELULAR SE CONVERTIRÁ FINALMENTE UNA CÉLULA MADRE?

Las células madre adultas propias de los distintos órganos se alojan en sitios denominados *nichos**. Allí, las CM se mantienen en constante comunicación con su entorno mediante señales intercelulares o mensajeros moleculares como citoquinas y factores de crecimiento. Las CM pueden permanecer en estado quiescente, es decir, sin proliferar y con reducida actividad metabólica hasta que algún cambio en los estímulos de su entorno induzca su proliferación y/o diferenciación. Allí, una misma célula madre adulta, podrá dar origen a distintos tipos celulares dependiendo de la combinación de estímulos que reciba de su entorno, aunque también existen reguladores celulares intrínsecos.

Si bien pueden encontrarse CM en diferentes nichos y en distintos órganos del cuerpo humano, las CM adultas que más se han estudiado son las células madre/progenitoras hematopoyéticas (CMH/CPH), que residen en la médula ósea (la cual no debe confundirse con la médula espinal). Las CMH son una población de células multipotentes que pueden diferenciarse para dar lugar a los distintos tipos de células que componen la sangre. Para ello es necesario que las células progenitoras vayan recibiendo distintas señales espacio-temporales, principalmente factores de crecimiento y citoquinas, como EPO,

G-CSF, SCF, IL-3, entre otros. Estas moléculas son glicoproteínas sintetizadas de manera soluble o ancladas en la membrana celular de células adyacentes a las CMH como, por ejemplo, las células madre mesenquimales. Las citoquinas y factores de crecimiento son moléculas *pleiotrópicas** y por ello el rol que cumplen siempre depende de qué otras moléculas estén participando. La hematopoyesis podría describirse entonces como un concierto de señales que debe darse de manera muy organizada. Y debido a que la mayoría de las células maduras efectoras de la sangre tienen un tiempo de vida muy corto, su producción es un proceso continuo durante la vida del individuo.

¿CÓMO SE UTILIZAN LAS CM EN INVESTIGACIÓN Y EN EL ÁMBITO CLÍNICO?

Las características únicas que poseen las CM las convierte en fuentes atractivas para diversos usos en el área clínica. A este proceso de transformar el conocimiento científico en aplicaciones médicas, como tratamientos o metodologías de diagnóstico para enfermedades particulares, se lo conoce como medicina traslacional. Como suele decirse, se trabaja en el paso de la mesada de laboratorio a la cama del paciente, para lo cual, antes de que un tratamiento sea adoptado debe ser evaluado a través de ensayos clínicos (ISSCR, EuroStemCell).

Las CM pueden emplearse para *estudios del desarrollo*, ya que la comprensión de las señales moleculares y los mecanismos que determinan su destino pueden brindar información sobre cómo surgen condiciones médicas, como el cáncer y las enfermedades congénitas. Esto permitiría desarrollar mejores herramientas de diagnóstico y detección y nuevas estrategias terapéuticas.

Por otro lado, los científicos pueden utilizar las CM, o células o tejidos derivados de ellas, para realizar *descubrimiento de drogas* que puedan: mejorar su función o estimular la expansión de las CM para incrementar la regeneración de tejidos, o alterar la progresión de enfermedades. Asimismo, es posible estudiar cómo ciertos agentes terapéuticos afectan diferentes órganos (por ejemplo, el hígado o los riñones) o a diferentes personas y, si aparecen efectos indeseables, podrían realizarse cambios en dichos compuestos.

El *estudio o modelado de enfermedades* a partir de CM que contienen un defecto genético o que han sido modificadas para contener dicho defecto genético, puede ser útil cuando es difícil obtener las células que se encuentran dañadas o que no funcionan correctamente en una enfermedad.

Si bien la donación de tejidos y órganos actualmente se utiliza con el fin de reemplazar células dañadas, la demanda de estos supera su disponibilidad. Por este motivo, las potenciales aplicaciones de CM en *medicina regenerativa* contemplan no solo el reemplazo de células dañadas, sino también su reparación, incluyendo a la ingeniería de tejidos y la producción de órganos

artificiales (Nature Portfolio). Los ensayos clínicos que utilizan CM para el tratamiento de diversas enfermedades se han incrementado notablemente en los últimos años. Sin embargo, para la utilización de estas en terapias regenerativas para enfermedades como la de Parkinson, cardíacas o diabetes, es necesario que las CM puedan ser diferenciadas en tipos celulares específicos. Esto continúa siendo un desafío que requerirá de años de investigación.

De esta manera, las únicas terapias basadas en células madre que se encuentran aprobadas actualmente para su aplicación clínica son: los trasplantes de CMH a partir de médula ósea, sangre periférica o sangre de cordón umbilical, que se emplean para tratar enfermedades hematológicas y del sistema inmune, o para restablecer los componentes del sistema circulatorio luego de tratamientos contra ciertos tipos de cáncer. Por otro lado, la comunidad médica generalmente considera seguro y efectivo el uso de injertos de tejidos para tratar algunas lesiones óseas, de la piel (como quemaduras), y de la córnea (Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación productiva, ISSCR).

La investigación y las terapias basadas en el uso de CM constituyen un área sumamente innovadora, aunque dinámica y compleja, lo que resulta un desafío desde el punto de vista regulatorio. Como cualquier descubrimiento científico, para que este se establezca en la práctica clínica, es necesario seguir un proceso de varios pasos que involucra evaluar la terapia en diferentes instancias para establecer su seguridad y efectividad. Como contraparte de las múltiples potenciales aplicaciones médicas que poseen las CM, los tratamientos basados en ellas que no se encuentran aprobados por entidades sanitarias pueden comprometer seriamente la salud del paciente debido a reacciones indeseadas en el sitio de inyección, la imposibilidad de controlar el desplazamiento de las células en el organismo y su diferenciación hacia otros tipos celulares, o el crecimiento de tumores. Esto también es válido para terapias que contemplan la reimplantación de CM propias del paciente, ya que existen riesgos asociados a la manipulación de estas (FDA).

¿POR QUÉ SON TAN IMPORTANTES LAS CMH PARA LA MEDICINA REGENERATIVA?

Como se explicó anteriormente, el área de la medicina regenerativa tiene como protagonistas a los progenitores hematopoyéticos, que han sido estudiados por más de 50 años. Su principal aplicación en la práctica clínica consiste en trasplantar CMH a pacientes que padecen de enfermedades hematológicas y del sistema inmune, como inmunodeficiencias, leucemia, anemia, linfomas, desórdenes autoinmunes, entre otras. Esto es posible porque las CMH son una población heterogénea de células multipotentes, capaces de diferenciarse generando células de los linajes linfoides y mieloide del sistema circulatorio (figura 3.1).

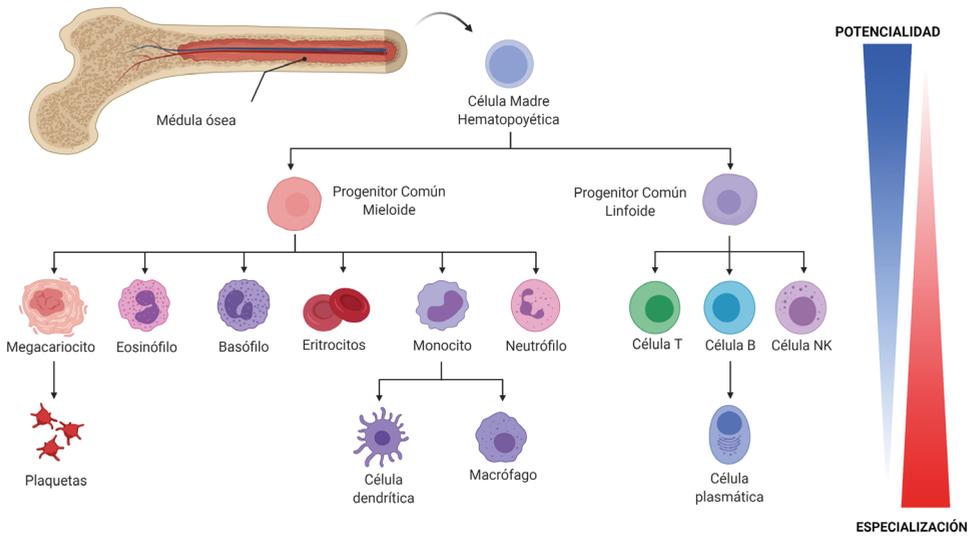


Figura 3.1. Hematopoyesis. Las Células Madre Hematopoyéticas son células multipotentes cuyo nicho principal se encuentra en la médula ósea. Estas generan células hijas con un mayor grado de diferenciación y una capacidad de autorenovación más limitada. Estos progenitores intermedios son el progenitor común linfoide (PCL), que da origen a células linfoides maduras (llamadas linfocitos B y T, y células Natural Killer —NK—) y, por otro lado, el progenitor mieloide, que puede dar origen a neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos (que

luego generan macrófagos y células dendríticas), mastocitos, megacariocitos (que originan a las plaquetas) y eritroblastos (a partir de los cuales se generan los eritrocitos). El destino celular final de las CM se va definiendo a medida que se desciende en el esquema de jerarquía celular. En este esquema simplificado no se detallan muchos estadios intermedios de maduración que existen hasta llegar a la célula especializada y que dan cuenta de la complejidad del proceso de producción de las células sanguíneas. Creado con BioRender.com

Dichos trasplantes pueden ser: autólogos, si se realizan a partir de células del propio paciente; singénicos, cuando el donante es el gemelo sano del paciente; o alogénicos, usando CMH de un donante compatible.

Esta práctica explota la capacidad de las CMH de migrar hacia la médula ósea, en un proceso que se conoce como *homing* y alojarse así en su nicho, para su supervivencia y proliferación regulada. Esto permite lograr la reposición de células sanas del sistema hematopoyético mediante una simple infusión intravenosa de CMH.

¿De dónde pueden obtenerse las células que son infundidas?

La obtención de CMH para trasplante se basa en el fenómeno natural de migración de estas células en el sentido inverso al *homing*, es decir, su egreso hacia el torrente sanguíneo desde la médula ósea. Para esto, los médicos inducen la liberación de CMH mediante la aplicación de compuestos como G-CSF, en un proceso que se denomina *movilización*, para así recolectar un mayor número de CMH en sangre periférica. También es posible obtenerlas directamente desde la médula ósea mediante una punción en el hueso de la cadera o bien a partir de sangre de cordón umbilical.

¿QUÉ PAPEL CUMPLE LA BIOTECNOLOGÍA EN ESTE CAMPO?

La Biotecnología de células madre utiliza la modificación e ingeniería de estas células para lograr mejoras terapéuticas y desarrollar herramientas con posterior aplicación en el ámbito clínico. Estos desarrollos se relacionan estrechamente con la ingeniería de tejidos, que combina el uso de células madre, biomateriales (que brindan el andamiaje para el correcto desarrollo de los tejidos) y señales (ejercidas por los ya mencionados factores de crecimiento y citoquinas), con el fin de generar y estudiar el crecimiento de tejidos *in vitro*, es decir, en una placa de cultivo (Pham, 2018).

Otro de los objetivos de la biotecnología consiste en obtener los tipos de células adecuados para su aplicación, ya sea terapéutica o de otro tipo, por manipulación de las condiciones de cultivo. Así, se pretende restringir las vías de diferenciación y generar cultivos enriquecidos en ciertos tipos de precursores o células diferenciadas funcionales. En este sentido, las concentraciones y duración de la acción de las señales moleculares, así como las propiedades de las moléculas en sí mismas, y otros parámetros de control biofísicos, son factores que juegan un rol fundamental.

La escala de los procedimientos constituye otro desafío, ya que, principalmente en lo que a aplicaciones terapéuticas respecta, la generación de tejidos funcionales requiere de la obtención de millones de células que sean capaces de funcionar y cooperar con otras células. La optimización de los procesos de proliferación y diferenciación celular es, entonces, un desafío biotecnológico que dificulta el traspaso del conocimiento obtenido en el laboratorio a la aplicación terapéutica. A su vez, la clínica requiere reproducibilidad y rentabilidad, para que los procedimientos sean accesibles.

Esta es una realidad que también alcanza a las terapias basadas en CMH, debido a que en el tratamiento de enfermedades hematológicas el número de células infundidas es crítico. Por ello, uno de los objetivos de la biotecnología en esta área consiste en la generación de procesos que permitan producir células de la sangre a gran escala, como glóbulos rojos, neutrófilos y

plaquetas (Timmins y Nielsen, 2009). Los desafíos asociados a estos procesos productivos no son pocos. Puesto que los progenitores son extremadamente sensibles a las señales de su entorno, la composición del medio de cultivo debe ser controlada exhaustivamente manteniendo en niveles adecuados las variables fisicoquímicas y las concentraciones de factores de crecimiento. Y, por sobre todo esto, se debe asegurar del inicio al fin del proceso la identidad de las células en cultivo, tanto sus características fenotípicas como su potencialidad. Actualmente la biotecnología se enfoca en el estudio de reguladores hematopoyéticos y el desarrollo de métodos para el uso de CMH *in vitro* e *in vivo*, incluyendo su manipulación genética para mejorar los procesos productivos o corregir CMH con errores genéticos causales de enfermedad, y así ampliar sus aplicaciones y seguridad (Ng y Alexander, 2017).

¿CON QUÉ HERRAMIENTAS CUENTA LA BIOTECNOLOGÍA PARA CUMPLIR ESTOS PROPÓSITOS?

En la optimización de las condiciones de cultivo de las CMH, uno de los puntos centrales es el alto costo asociado a los suplementos que deben adicionarse para lograr la expansión o diferenciación de estas. Los factores de crecimiento y las citoquinas *recombinantes** representan más del 30 % del costo total del medio de cultivo, y debido a su baja estabilidad es necesario suplementar frecuentemente con altas concentraciones de estos (Khalil *et al.*, 2020).

Una de las estrategias para superar este obstáculo consiste en evaluar qué factores de crecimiento son esenciales para el cultivo de las CMH y diseñar mejoras en su proceso de producción biotecnológico que permitan disminuir el costo de obtención y, a su vez, conferirles características fisicoquímicas favorables para obtener mayor potencia proliferativa, estabilidad, etc. Dichas mejoras podrían abarcar: la selección del organismo más adecuado y la optimización de las condiciones de cultivo para su producción recombinante, la generación de variantes de la molécula que hagan más eficiente su purificación, o bien, la elaboración de una formulación o inmovilización en polímeros biocompatibles que permitan mantener la bioactividad del factor de crecimiento por mayores períodos de tiempo. Simultáneamente, se estudia la adición de moléculas pequeñas y/o suplementos de cultivo como factores adicionales para favorecer el mantenimiento y la expansión de las CMH (Enriquez-Ochoa *et al.*, 2020; Wilkinson *et al.*, 2020).

Uno de los factores de crecimiento esenciales para el cultivo de CMH es el Stem Cell Factor (SCF). SCF actúa *in vivo* en conjunto con otros factores y citoquinas linaje-específicos promoviendo la proliferación, supervivencia y diferenciación de las CMH (Lennartson y Ronsstrand, 2012). Se utiliza en conjunto con IL-3 y eritropoyetina humana (EPO) durante los primeros días

de cultivo para inducir la proliferación de las células progenitoras en los protocolos de obtención de glóbulos rojos *in vitro* y también como suplemento en los protocolos de diferenciación de iPSCs (Douvaras *et al.*, 2017; Sica *et al.*, 2020). Aunque muchos protocolos de cultivo utilizan SCF humano recombinante producido en bacterias, su obtención a partir de células animales podría presentar diversas ventajas, dado que estas últimas poseen un metabolismo capaz de agregar azúcares muy similares a los que la glicoproteína tiene naturalmente (Fuselli, 2015).

Otra estrategia que podría aplicarse con el objeto de optimizar la obtención de células sanguíneas es la modificación genética de las CMH (figura 3.2). Esto podría ser utilizado con el fin de producir grandes números de células comprometidas o maduras con mayor reproducibilidad (Kurita *et al.*, 2013), o bien, generar CMH que secreten proteínas relevantes para el proceso productivo (como HEPo, para la producción de células eritroides, o HOXB4, para favorecer la autorenovación de CMH) (Antonchuk *et al.*, 2001; Cappellino *et al.*, 2017).

Por otro lado, cuando el trasplante alogénico de CMH no es posible por falta de un donante compatible, se consideran estrategias de reparación o adición de genes en las CMH del paciente para el tratamiento autólogo de enfermedades como inmunodeficiencias. Recientemente, se aprobó por primera vez una terapia basada en el uso autólogo de CMH de médula ósea modificadas genéticamente *ex vivo* para el tratamiento de un tipo de inmunodeficiencia congénita denominada ADA-SCID (Aiuti *et al.*, 2017).

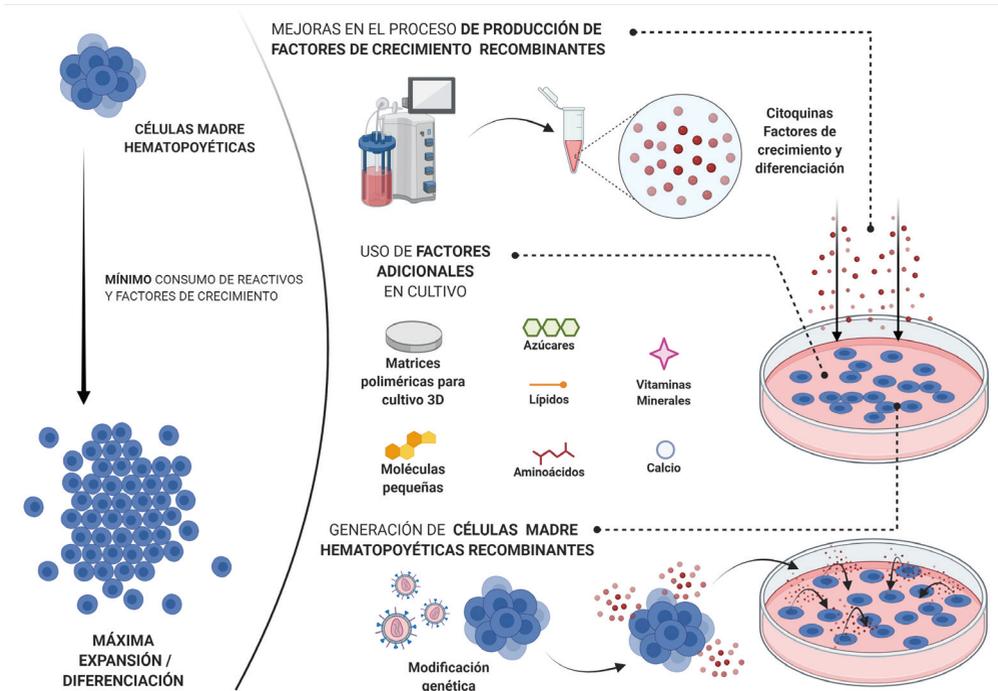


Figura 3.2. Estrategias biotecnológicas aplicadas al cultivo ex vivo de CMH. Estas técnicas tienen como objetivo imitar las características del nicho hematopoyético y a la vez desarrollar condiciones controladas de cultivo mediante la adición de factores de crecimiento, citoquinas, moléculas pequeñas o matrices poliméricas que permitan el cultivo en tres dimensiones. Aquí se ejemplifican diversas estrategias para reducir el consumo de factores de crecimiento y aditivos y maximizar la expansión/diferenciación de las CMH: introducir mejoras en el

proceso productivo y en las características fisicoquímicas de moléculas y factores de crecimiento recombinantes que son agregados de manera exógena o bien, modificar genéticamente las CMH cultivadas para que estas produzcan algunos de los principales factores de crecimiento o reguladores y así favorecer su autorenovación o inducir su diferenciación hacia algún linaje celular particular, por ejemplo, para la generación de células eritroides. Creado con BioRender.com

CONCLUSIONES

A pesar de los múltiples desafíos que se presentan actualmente en la traslación de las terapias y metodologías que utilizan CM, la ciencia continúa estudiando sus propiedades y comportamiento para lograr un conocimiento completo de su biología. La biotecnología tiene un rol fundamental en el desarrollo de nuevas estrategias que permitan mejorar su eficiencia y la de los procesos que permiten su expansión, diferenciación e ingeniería, para el uso de las mismas en una variedad de aplicaciones que incluye desde el estudio y mejora de drogas, hasta las terapias mediadas por células. La aplicación de las CM en el tratamiento de diversas enfermedades ya es una realidad y su futuro impacto en la clínica podría llegar a ser aún más significativo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIUTI, A.; RONCAROLO, M.G.; NALDINI, L. (2017). Gene therapy for ADA-SCID, the first marketing approval of an *ex vivo* gene therapy in Europe: paving the road for the next generation of advanced therapy medicinal products. *EMBO Molecular Medicine*, 9(6), 737-740.
- ANTONCHUK, J.; SAUVAGEAU, G.; HUMPHRIES, R.K. (2001). HOXB4 overexpression mediates very rapid stem cell regeneration and competitive hematopoietic repopulation. *Experimental Hematology*, (29), 1125-1134.
- BLAU, H.M.; DALEY, G.Q. (2019). Stem Cells in the Treatment of Disease. *New England Journal of Medicine*, (380), 1748-1760.
- BURGESS, R. (2013). Introduction to Stem Cells. En *Stem Cells Handbook* (pp. 1-27). Springer Science & Business Media.
- CAPPELLINO, L.A.; KRATJE, R.B.;...; PRIETO, C.C. (2017). Strategy for erythroid differentiation in *ex vivo* cultures: Lentiviral genetic modification of human hematopoietic stem cells with erythropoietin gene. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, (124), 591-598.
- DOUVARAS, P.; SUN, B.;...; FOSSATI, V. (2017). Directed Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells to Microglia. *Stem Cell Reports*, 8(6), 1516-1524.
- ENRIQUEZ-OCHOA, D.; ROBLES-OVALLE, P.;...; BRUNCK, M.E.G. (2020). Immobilization of Growth Factors for Cell Therapy Manufacturing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, (8), artículo 620, 1-20.
- FUSELLI, A. (2015). Desarrollo de un sistema de producción del factor de crecimiento de células madre hematopoyéticas humanas: Stem Cell Factor. (Tesina de Licenciatur Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe.

<https://www.eurostemcell.org/types-stem-cells-and-their-uses>

<https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/fda-warns-about-stem-cell-therapies>

<https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/approved-cellular-and-gene-therapy-products>

<https://www.nature.com/subjects>

INTERNATIONAL SOCIETY FOR STEM CELL RESEARCH (ISSCR). Stem Cell Facts. <https://www.closerlookatstemcells.org/wp-content/uploads/2018/10/stem-cell-facts.pdf>

KHALIL, A.S.; XIE, A.W.;...; MURPHY, W.L. (2020). Sustained release and protein stabilization reduce the growth factor dosage required for human pluripotent stem cell expansion. *Biomaterials* 248, 120007.

KURITA, R.; SUDA, N.;...; NAKAMURA, Y. (2013). Establishment of Immortalized Human Erythroid Progenitor Cell Lines Able to Produce Enucleated Red Blood Cells. *PLOS ONE*, 8(3), e59890.

MINISTERIO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN PRODUCTIVA. CÉLULAS MADRE. DOCUMENTOS. <https://www.argentina.gov.ar/ciencia/celulasmadre/documentos>

NG, A.P.; ALEXANDER, W.S. (2017). Hematopoietic stem cells: past, present and future. *Cell Death Discovery*, (3), 17002.

PHAM, P.V. (2018). Medical Biotechnology: Techniques and Applications. En *Omics Technologies and Bio-Engineering: Towards Improving Quality of Life* (pp. 449-469). Academic Press.

RATAJCZAK, M.Z. (2019). *Stem cells : therapeutic applications*. Springer.

SICA, A.R.; TERZIOGLU, M.K.;...; MAHMUD, N. (2020). Mechanistic Basis of Ex Vivo Umbilical Cord Blood Stem Progenitor Cell Expansion. *Stem Cell Reviews and Reports*, 16(4), 628-638.

TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 126(4), 663-676.

TIMMINS, N.E.; NIELSEN, L.K. (2009). Blood cell manufacture: current methods and future challenges. *Trends in Biotechnology*, 27(7), 415-422.

WANG, X.; RIVIÈRE, I. (2017). Genetic Engineering and Manufacturing of Hematopoietic Stem Cells. *Molecular Therapy, Methods and Clinical Development*, (5), 96105.

WILKINSON, A.C.; IGARASHI, K.J.; NAKAUCHI, H. (2020). Haematopoietic stem cell self-renewal in vivo and ex vivo. *Nature Reviews Genetics*, (21), 541-554.

YAMANAKA, S. (2020). Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy-Promise and Challenges. *Cell Stem Cell*, 27(4), 523-531.

ZAKRZEWSKI, W.; DOBRZYŃSKI, M.;...; RYBAK, Z. (2019). Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Research & Therapy*, (10), artículo 68.

4 Biotecnología, la herramienta clave en el desarrollo de nuevas vacunas

IVANA GABRIELA REIDEL · ROMINA CECILIA RUSSI

INTRODUCCIÓN

Debido a la pandemia de COVID-19 hemos escuchado en los medios de comunicación hablar a diario del surgimiento de nuevas vacunas. Se ha discutido ampliamente sobre las tecnologías involucradas en los desarrollos y sobre los datos que surgieron de los ensayos clínicos. Sin embargo, poco hemos escuchado del rol del profesional en biotecnología en estos avances. Es por esto que en este capítulo buscamos introducirlos en las bases necesarias para comprender cómo se diseña y desarrolla una nueva vacuna, así como también, brindarles una visión de qué podemos aportar los biotecnólogos en estos desarrollos capaces de salvar millones de vidas.

ENEMIGOS MICROSCÓPICOS Y EL SISTEMA INMUNE

Conocer qué es y cómo funciona nuestro sistema inmune es esencial para poder incursionar en el diseño y desarrollo de vacunas. En esta sección buscamos introducirlos a algunos conceptos claves para comprender el funcionamiento de una vacuna.

Los microorganismos patógenos

Las enfermedades infecciosas están causadas por microorganismos que ingresan a nuestro cuerpo y se multiplican en él generando algún tipo de daño. Estos microorganismos son denominados patógenos (EFIS, 2009).

Muchos tipos de patógenos provocan enfermedades en los seres humanos (figura 4.1).

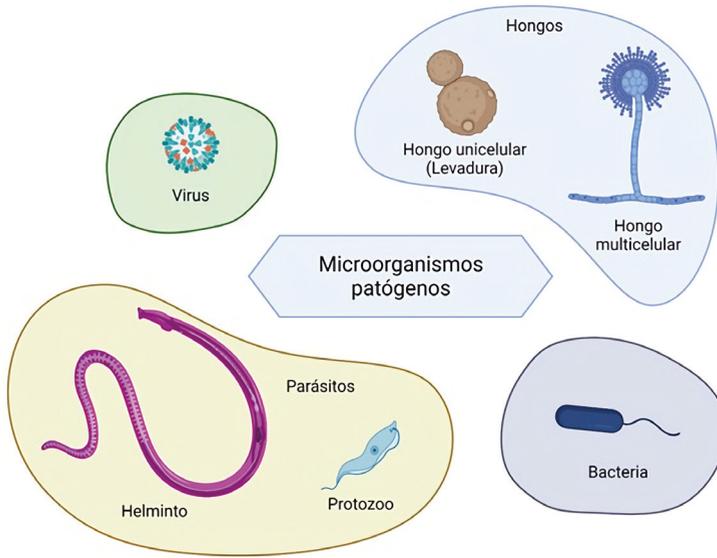


Figura 4.1.
Representación
gráfica de distintos
organismos patógenos.
Imagen creada con
BioRender.com

Entre los más comunes se encuentran virus y bacterias. Los virus son microorganismos acelulares, capaces de causar enfermedades que van desde el resfriado común hasta el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) e incluso el COVID-19. Son esencialmente fragmentos de ácidos nucleicos (ADN o ARN), envueltos en una capa protectora de proteínas y, en algunos casos, membrana lipídica. Dependen por completo de infectar o «ingresar» a nuestras células para utilizar la maquinaria presente en ellas y así poder replicarse o «multiplicarse». El proceso de replicación viral es a menudo suficiente para matar la célula huésped, ya que la célula infectada se lisa (se rompe), liberando las nuevas partículas virales y permitiendo que estas ingresen a células vecinas para repetir este ciclo (Alberts *et al.*, 2002). Las bacterias, por su parte, tienen un mayor tamaño y son más complejas que los virus. Son organismos unicelulares capaces de realizar la mayoría de sus funciones metabólicas básicas por sí mismas, y dependen de nuestro cuerpo para nutrirse. La mayoría de los patógenos bacterianos se comportan como agentes infecciosos extracelulares, a diferencia de los virus no ingresan a nuestras células. Sin embargo, cuentan con una batería de armas, como la producción de toxinas capaces de destruirlas para así obtener nutrientes de ellas (Alberts *et al.*, 2002).

Otros patógenos son organismos eucarióticos como hongos y parásitos. Dentro de los parásitos podemos encontrar desde protozoos unicelulares, hasta grandes helmintos que pueden alcanzar a medir varios centímetros de longitud. Los primeros suelen comportarse como microorganismos intracelulares, al menos en ciertos estadios de su ciclo evolutivo. Los segundos son organismos multicelulares que habitan el compartimento extracelular (Alberts *et al.*, 2002).

Como podemos ver, existe una gran diversidad en los patógenos, tanto respecto a sus tamaños como en los mecanismos que utilizan para infectar nuestro cuerpo y generar finalmente una enfermedad. Por este motivo, nuestro sistema inmune, debe contar con distintos mecanismos o «armas» para combatir tan diversos enemigos.

El sistema inmune

Nuestro cuerpo está formado por unidades extremadamente pequeñas denominadas células. Existen distintos tipos de células, capaces de realizar diferentes funciones, dando lugar así a los órganos y sistemas. El sistema inmune no es la excepción y está formado principalmente por células llamadas leucocitos o glóbulos blancos. Estas células están presentes en nuestra sangre, y como la sangre circula a través de todo nuestro cuerpo, podemos encontrar células inmunes en todas partes (EFIS, 2009).

Nuestro sistema inmunológico trabaja sin descanso para proteger nuestro cuerpo de miles de millones de patógenos presentes en el ambiente, logrando que solo en pocas ocasiones nos enfermemos. Más aún, cuando esto sucede, gracias a la rápida respuesta de nuestro sistema inmune, conseguimos mejorar en unos pocos días. Cuando un microorganismo patógeno ingresa a nuestro cuerpo, existen diferentes tipos de células inmunes capaces de responder a la invasión. Cada tipo de células cuenta con diferentes mecanismos que resultan útiles para combatir distintos patógenos (EFIS, 2009). En esta sección, nos centraremos en algunos tipos celulares que nos permitirán ejemplificar diferencias fundamentales en el desarrollo de vacunas.

El primer encuentro de nuestro sistema inmune con un patógeno se da en el sitio por el cual ha ingresado, por ejemplo, puede darse en el lugar donde nos raspamos al caernos (la piel es nuestra mayor barrera con agentes externos, cuando su continuidad se ve interrumpida por una raspadura o corte, los microorganismos pueden ingresar por allí a nuestro cuerpo). Los primeros en llegar al sitio de infección son los neutrófilos (figura 4.2), un grupo de leucocitos que contienen gránulos llenos con enzimas y sustancias microbicidas que pueden liberar al exterior para así destruir al patógeno. Estas células también pueden fagocitar o «comer» al microorganismo para luego destruirlo en su interior.

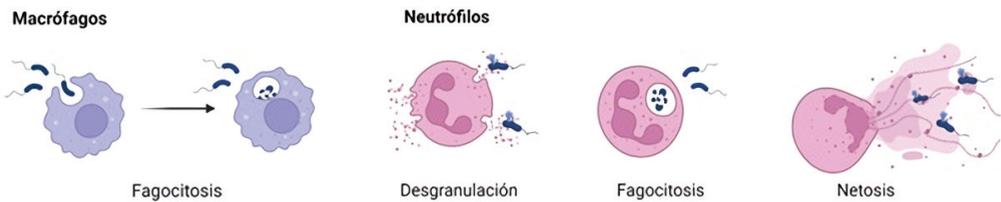


Figura 4.2. Mecanismos de la respuesta inmune innata. Representación gráfica del mecanismo de fagocitosis realizado por macrófagos y de los mecanismos de desgranulación, fagocitosis y netosis (liberación de trampa de ADN) por neutrófilos. Imagen creada con BioRender.com

Por último, cuando están exhaustas, son capaces de sacrificarse liberando una trampa de ADN que inmoviliza a los patógenos y los deja indefensos para el ataque de otras células. Estos mecanismos resultan eficientes siempre que el microorganismo se encuentre fuera de nuestras células, por lo que son especialistas en el combate de bacterias extracelulares (Kennedy, 2010; Fainboim y Geffner, 2011). Al igual que los neutrófilos, los macrófagos son células dotadas de una alta capacidad fagocítica y microbicida (figura 4.2), ideal para el control de microorganismos extracelulares. Sin embargo, tienen tres características especiales: 1. viven más tiempo; 2. son células presentadoras de antígeno (pueden comunicarles a otras células del sistema inmune cuál es el patógeno que deben combatir); y 3. producen diversas citoquinas y quimioquinas, proteínas que dan la señal de alarma reclutando al sistema inmune en el sitio de infección (Fainboim y Geffner, 2011). Estas células pertenecen a lo que se conoce como sistema inmune innato, el cual está formado por un conjunto de células capaces de atacar con diversas armas a cada tipo de patógeno, pero sin identificar específicamente de qué microorganismo se trata (Kennedy, 2010). Así, por ejemplo, ante una infección viral, contará con armas para combatirla, pero no podrá distinguir si está combatiendo contra la gripe o el SARS. La ventaja de esto es que son células listas para responder en pocas horas.

Por otro lado, contamos con lo que se conoce como respuesta inmune adaptativa (figura 4.3), un conjunto de glóbulos blancos denominados linfocitos, capaces de reconocer y eliminar un patógeno específico. A diferencia de la respuesta innata, cuando nos enfrentamos por primera vez a un patógeno, la respuesta adaptativa requiere de varios días para activarse y unirse al combate (EFIS, 2009).

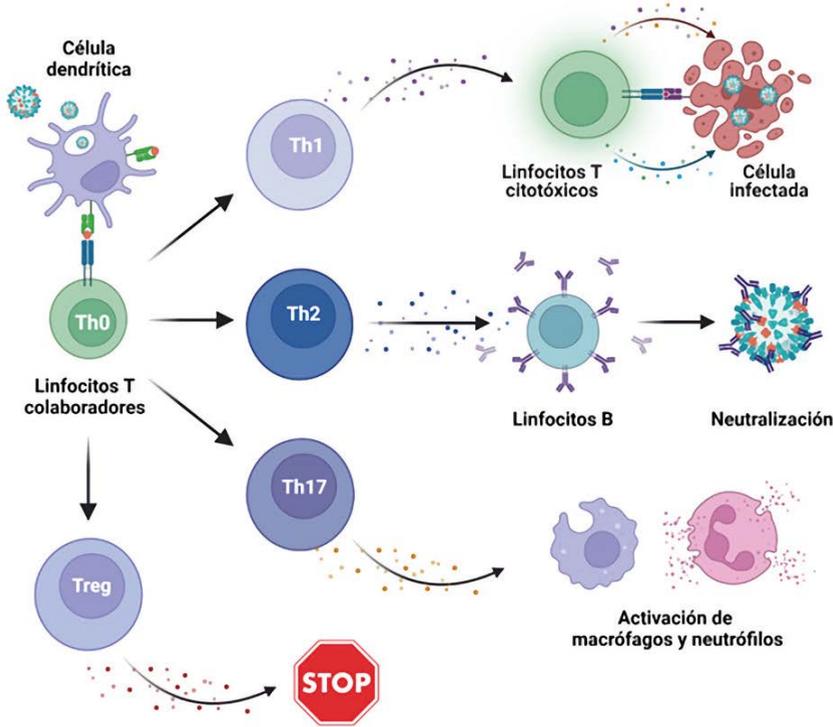


Figura 4.3. Mecanismos de la respuesta inmune adaptativa. Representación gráfica de la activación de los linfocitos T colaboradores mediada por la célula dendrítica, luego de que esta reconoce al patógeno. Los linfocitos T al activarse pueden seguir distintos caminos que darán lugar a la activación de distintos mecanismos para el control de la infección, como la producción de linfocitos

citotóxicos capaces de destruir células infectadas, la producción de anticuerpos capaces de neutralizar al patógeno y la activación de células de la respuesta inmune innata. Cuando la infección fue controlada, también son capaces de enviar una señal de alto para frenar todos los mecanismos que se activaron previamente. Imagen creada con BioRender.com>

Sin embargo, vale la pena la espera, ya que sus armas pueden resultar más específicas y efectivas. Estas células pueden clasificarse en linfocitos B y T. Los linfocitos B (LB) son células capaces de producir anticuerpos. Los anticuerpos son proteínas que se unen al patógeno de manera muy específica y pueden actuar como opsonizantes, recubriendo al patógeno y facilitando que otras células, como los neutrófilos, los reconozcan y destruyan, o como neutralizantes, uniéndose a una porción del patógeno e impidiendo que este haga daño o continúe su ciclo de infección (Kennedy, 2010). Cuando escuchamos que una vacuna contra SARS-CoV-2 produce anticuerpos neutralizantes, lo

que nos están diciendo es que los anticuerpos generados por esta vacuna son capaces de bloquear la capacidad del virus de ingresar a una nueva célula y así su replicación y diseminación a otras células. Por su parte, los linfocitos T (LT) pueden ser clasificados en LT helper o «colaboradores» y en LT citotóxicos. Los primeros tienen la capacidad de colaborar con el resto de las células del sistema inmune, produciendo citoquinas que envían señales sobre que armas son necesarias para combatir ese patógeno. Los LT citotóxicos son la clave para el control de las infecciones virales. Tienen la habilidad de reconocer cuál de nuestras células está infectada. Una vez que la identifica, destruye a esta célula impidiendo que el virus continúe su replicación, liberándolo al exterior donde podrá ser reconocido y controlado por otros mecanismos, como los anticuerpos neutralizantes (Kennedy, 2010; Fainboim y Geffner, 2011). Existen también los LT reguladores, estos son los responsables de identificar cuando la infección ya fue controlada y enviar la señal de «alto al fuego» (EFIS, 2009).

El desarrollo de la respuesta inmune adaptativa depende de la acción de una célula clave, denominada célula dendrítica (figura 4.3). Estas células están distribuidas por todo nuestro cuerpo buscando señales de que algo extraño ha ingresado a nuestro cuerpo. Cuando un patógeno ingresa, son las encargadas de fagocitarlo y presentárselo a los LT *helper* para que estos comprendan no solo cuál es el patógeno a combatir, sino también de qué tipo de microorganismo se trata (bacteria, virus, parásito, hongo). La información que la célula dendrítica le brinda a los LT *helper*, les permitirá a estos seleccionar las armas adecuadas y orquestar el ataque para que el control de la infección sea efectivo (EFIS, 2009; Kennedy, 2010).

Memoria inmunológica

Habrán escuchado más de una vez decir «yo ya tuve paperas» o varicela. Cuando la gente dice esto, se refiere a que, si ya enfermó una vez por un patógeno particular y se recuperó, este patógeno no podrá volverlos a enfermar. Esto se debe, a una de las funciones más importantes de nuestro sistema inmune, denominada memoria inmunológica (EFIS, 2009).

La memoria inmunológica es la capacidad de nuestro sistema inmune adaptativo de recordar todos los patógenos que nos infectaron en nuestra vida. Cuando nos infectamos por primera vez, parte de los LB y LT se convierten en linfocitos de memoria. Estos linfocitos pueden vivir durante años y, si bien se encuentran inactivos patrullando nuestro cuerpo, de encontrarse por segunda vez con el mismo patógeno pueden activarse fácilmente, proporcionando una respuesta inmune rápida y precisa, que les permita actuar (entrar en combate) de inmediato, sin esperar varios días para su activación (EFIS, 2009; Kennedy, 2010).

VACUNAS, LAS HERRAMIENTAS PARA ENTRENAR AL SISTEMA INMUNE

La vacunación constituye una herramienta clave para el control de infecciones y en algunos casos ha conseguido alcanzar límites cercanos a la erradicación de enfermedades. El ejemplo más notorio de su impacto es el control de la viruela. Se calcula que solo esta infección se cobró 300 millones de vidas en el siglo XX y que, desde la declaración de su erradicación en 1978, ni una vida más se ha perdido por su causa (Rappuoli *et al.*, 2014). En la actualidad se dispone de vacunas para protegernos contra al menos 20 enfermedades infecciosas. En conjunto estas vacunas salvan cada año tres millones de vidas (OMS, 2020).

En esta sección buscaremos introducirlos tanto en el surgimiento de este campo de investigación, como en las tecnologías que hacen posible el desarrollo de las vacunas actuales.

Un poco de historia

Los comienzos de la vacunología se podrían situar alrededor del año 430 a. C., cuando Tucídides reporta por primera vez que aquellas personas que sobrevivían a enfermedades contagiosas mortales no volvían a contraer por segunda vez esa enfermedad (Rappuoli *et al.*, 2014). Lo que hoy conocemos como memoria inmunológica.

Históricamente se les atribuye a los chinos la primera aplicación de esta idea, hace más de mil años, cuando desarrollaron la variolización, un proceso por el cual se introducía, por vía nasal, pus seca proveniente de pústulas de personas que habían logrado sobrevivir a la viruela. De esta forma, se exponía a personas sanas al patógeno con la intención de que este generara protección a siguientes exposiciones. En 1796, el científico inglés Edward Jenner combina su conocimiento sobre la variolización, con la observación de que aquellas mujeres ordeñadoras que contraían en primer lugar la viruela vacuna, raramente contraían la viruela humana seguida a esa primera infección. Fue así como decidió tomar pus seco de las pústulas de una ordeñadora infectada con viruela vacuna y realizar un pequeño corte en el brazo de un niño de 8 años, por donde lo inoculó (introdujo este material). Pasadas 6 semanas, expuso al niño a un contacto con viruela humana y este no desarrolló las lesiones típicas de la infección, demostrando que la exposición a un agente que imitara la infección, sin producir la enfermedad, bastaba para generar inmunidad al agente patógeno (McCullers, 2007). Esta experiencia no solo les valió su nombre a las vacunas (por ser la primera desarrollada a partir de la viruela vacuna), sino que dio lugar al nacimiento de la vacunología como campo de investigación. Los avances en este campo se intensificaron con el descubrimiento del origen microbiano de las enfermedades a fines del siglo

xix por Louis Pasteur y se aceleraron aún más con el surgimiento de nuevas tecnologías en el siglo xx, como el advenimiento de la biología molecular y la ingeniería genética. Estos avances permitieron mejorar la forma en que las vacunas inducen una respuesta inmune protectora minimizando los riesgos, por ejemplo, utilizando solo partes del patógeno en lugar del microorganismo completo (McCullers, 2007; Rappuoli *et al.*, 2014). Estos avances dieron lugar a una explosión en el desarrollo de vacunas, siendo considerada como una de las contribuciones científicas más importantes del siglo xx. En la actualidad, la vacunación es considerada una de las herramientas para acceder a un estilo de vida saludable, convirtiéndose así el acceso a la vacunación en un derecho de todos los ciudadanos.

¿Qué son las vacunas?

Una vacuna es un producto farmacéutico capaz de estimular nuestro sistema inmunológico para producir inmunidad contra un patógeno, evitando de esta manera que debamos enfermarnos por primera vez para generar una memoria inmunológica efectiva para su control (CDC, s.f.). De esta manera, las vacunas reducen el riesgo de contraer una enfermedad, ya que «entrenan» al sistema inmunológico en los mecanismos que necesitará para protegernos contra un determinado patógeno. Como hemos visto antes en este capítulo, los mecanismos que deberá ser capaz de inducir una vacuna dependerán del tipo de patógeno que se quiera combatir, pudiendo incluir tanto la producción de anticuerpos, como la activación de distintas células inmune. Estos mecanismos quedarán «guardados» en la memoria inmunológica, siendo esta capaz de responder rápidamente si el patógeno ingresa durante una infección natural, previniendo así la manifestación o gravedad de la enfermedad que este podría causar. Teniendo en cuenta que nuestro sistema inmune está diseñado para recordar, cuando nos vacunamos contra una enfermedad, quedamos protegidos contra ese patógeno normalmente durante años, décadas o, incluso, para toda la vida (OMS, 2020).

Tipos de vacunas

Actualmente existen tecnologías muy diversas para la producción de vacunas (figura 4.4). Dentro de estas, las tres clases principales son: vacunas a microorganismo completo, contienen al patógeno completo; vacunas a subunidades, contienen solo algunos fragmentos del patógeno; vacunas a ácidos nucleicos, contienen un material genético (ADN o ARN), que brinda las instrucciones para que nuestras células «fabriquen» un fragmento del patógeno (OMS, 2021).

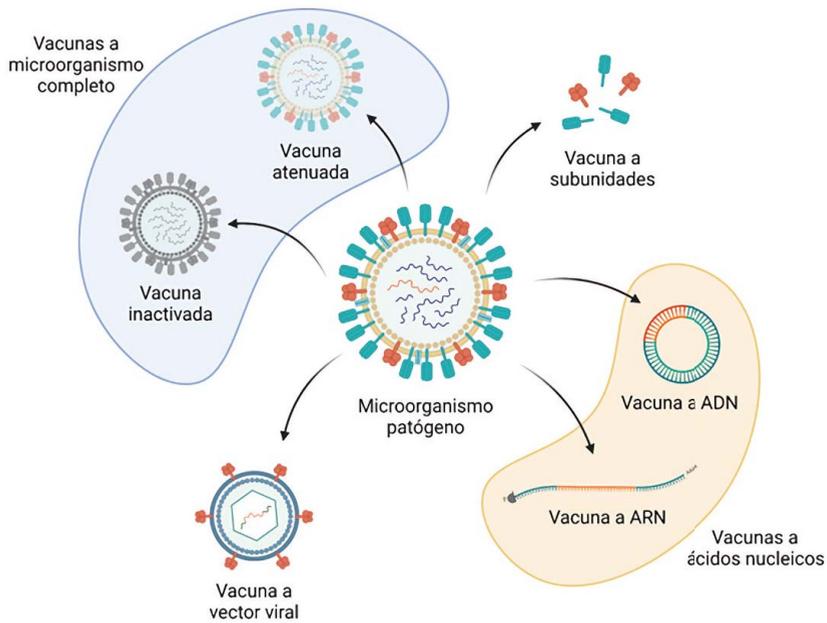


Figura 4.4. Representación gráfica de distintas tecnologías utilizadas en la actualidad para la producción de vacunas. Dentro del microorganismo patógeno se puede observar una secuencia de ácido nucleico naranja que representa el código para la proteína o antígeno naranja, presentado en su exterior. Este material genético es utilizado

para el desarrollo de todas las plataformas, exceptos las incluidas en la clasificación de vacunas a microorganismos completos. Estas últimas, utilizan el microorganismo completo luego de someterlo a distintos procesos para reducir o eliminar su patogenicidad. Imagen creada con BioRender.com

Las vacunas a microorganismo completo a su vez pueden clasificarse como vacunas vivas atenuadas que contienen el microorganismo completo y este es capaz de replicarse, pero no de producir la enfermedad y vacunas completas inactivadas, las cuales contienen el microorganismo completo, pero este es incapaz incluso de replicarse. Las vacunas vivas atenuadas requieren que se realice un proceso por el cual se logra debilitar al patógeno (OMS, 2021). Estas vacunas, al utilizar el patógeno completo y «vivo», pueden simular muy bien una infección, logrando generar una respuesta inmune con todas las herramientas necesarias para controlar al patógeno, en tan solo 10–14 días, pero evitando desarrollar la enfermedad. Sin embargo, estas vacunas presentan la desventaja de no poder ser administradas en personas inmunodeprimidas (con un sistema inmune debilitado) ya que existe el riesgo de que estas enfermen. Actualmente las vacunas que emplean esta tecnología son la BCG (vacuna contra la tuberculosis) (Canoui y Launay, 2019), y la vacuna

tripe viral que protege contra el sarampión, papera y rubeola (OMS, 2021). Por su parte, las vacunas inactivadas se pueden obtener sometiendo al patógeno a un tratamiento que lo inactive o «mate». Este tratamiento puede ser por métodos físicos como calor, o químicos como el uso de formaldehído. En cuanto a la respuesta que pueden desencadenar, al ser el patógeno entero reconocido por el sistema inmune, puede llegar a ser muy semejante a la inducida por la infección natural. Esta tecnología es segura para las personas inmunocomprometidas (OMS, 2021). La vacuna contra SARS-CoV-2 producida por Sinopharm se basa en esta tecnología (Milken Institute, 2021).

La mayoría de las vacunas incorporadas en el calendario de vacunación son vacunas a subunidades, protegiendo a las personas de enfermedades como el tétanos, la difteria y la meningitis meningocócica (OMS, 2021). En las vacunas a subunidades los fragmentos del patógeno que se emplean son denominados antígenos. Muchos de los antígenos incorporados en las vacunas a subunidades son proteínas producidas principalmente utilizando ingeniería genética. Para eso, el material genético o información para la «elaboración» del fragmento elegido del patógeno se inserta en otro organismo. Este organismo utilizará su maquinaria biológica no solo para realizar sus funciones metabólicas, sino también para producir el antígeno de interés. Estas vacunas son denominadas recombinantes, debido a que el organismo en el cual se produce el antígeno (bacteria, levadura o células eucariotas) no es el mismo que le da origen. Una vez producido el antígeno, este es purificado y utilizado para formular la vacuna (Nascimento y Leite, 2012). Tanto en este tipo de vacunas como en todas aquellas en las que no se incluya al patógeno completo en su formulación, el sistema inmune «aprende» a reconocer solo los fragmentos del patógeno que se hayan incluido, es por esto que el o los antígenos que se escojan deben ser esenciales en el proceso infeccioso, ya que la respuesta inmune y memoria generada apuntará específicamente a estos (Arya, 2021). Por ejemplo, la vacuna contra SARS-CoV-2 de la empresa Novavax está formulada con el antígeno S o *spike*, una proteína que el virus utiliza como llave para ingresar a las células donde podrá replicarse (Milken Institute, 2021). De esta manera, las personas vacunadas, son capaces de generar una respuesta inmune capaz de reconocerla y bloquear así la entrada del virus a las células.

Las vacunas a ácidos nucleicos (ADN o ARN) se basan en el material genético que codifica o contiene la información de uno o varios antígenos del patógeno y requieren, al igual que las vacunas recombinantes, de la utilización de la ingeniería genética para su producción. En este caso, el material genético del antígeno escogido es insertado en un plásmido (un tipo de ADN bacteriano). Las vacunas a ADN son formuladas con este plásmido, mientras que, para las vacunas a ARN, el plásmido puede ser utilizado como molde para sintetizar el ARN en el laboratorio, siendo este último el que se incluye en la formulación. Tanto el ADN como el ARN contienen la información y señales para que sean las células de nuestro cuerpo las que generen el antígeno (Pollard

y Bijker, 2020). Es decir que, en ambos casos, nosotros somos el organismo que produce la proteína escogida del patógeno. Este antígeno, una vez producido por nuestras células, no es capaz de generar la enfermedad porque solo es una parte muy pequeña del patógeno. Aun así, las células dendríticas pueden reconocerlo como extraño y activar una respuesta inmune contra él. Ejemplos de vacunas a ARN son las vacunas contra SARS-COV-2 realizadas por Moderna y Pfizer-BionTech (Milken Institute, 2021). Varias vacunas a ADN contra distintos patógenos, incluso SARS-COV-2, han sido probadas en fases clínicas, sin embargo, hasta el momento ninguna ha sido aprobada para su uso en humanos.

Dentro de las tecnologías más modernas para la producción de vacunas, podemos encontrar también las denominadas vacunas a vectores virales. En este caso, el material genético que contiene la información para «fabricar» el antígeno de interés es transportado por un virus inocuo, motivo por el que se las incluye en la categoría de vacunas a microorganismos completos. Pueden utilizarse dos tipos de vectores: vectores virales replicativos, utilizan un virus atenuado, capaz de replicarse, pero incapaz de generar una enfermedad; o vectores virales no replicativos, incapaces incluso de multiplicarse. Semejante a lo que ocurre con las vacunas a ácidos nucleicos, el vector viral puede introducir a nuestras células la información para que sean estas las que produzcan el antígeno contra el que queremos generar una respuesta inmune (Nascimento y Leite, 2012). Las vacunas contra SARS-COV-2 producidas tanto por Oxford-AstraZeneca, como por el Instituto Gamaleya (Sputnik V), son ejemplos de vacunas que utilizan esta tecnología (Milken Institute, 2021).

A excepción de las vacunas que utilizan microorganismos atenuados, el resto de las tecnologías presentan ciertas limitaciones en cuanto a la respuesta inmune que pueden inducir. Esto se debe a que la célula dendrítica al encontrar un microorganismo completo que aún conserva algunas de sus funciones, puede reconocer de qué tipo de microorganismo se trata (virus, bacteria, etc.) y que tipo de infección va a producir (extracelular, intracelular o ambas) y podrá brindar esta información a los linfocitos. Sin embargo, cuando se utilizan tecnologías en las que solo se usan fragmentos del patógeno, la célula dendrítica no recibe información sobre el contexto en el que llegarán esos antígenos en una infección natural y puede solicitar a los linfocitos que produzcan armas ineficientes para combatir la infección. Para superar esta limitación, en estas formulaciones se incorporan adyuvantes, un componente cuya función es la de estimular una respuesta inmune apropiada hacia el antígeno al que acompaña. Otra limitación en el diseño de vacunas es la longevidad de la memoria inmunológica generada. Esta suele sobrellevarse mediante la aplicación de varias dosis o refuerzos a lo largo de la vida (Pollard y Bijker, 2020).

Como podemos ver, cada tecnología presenta distintas ventajas y desventajas. Sin embargo, todas resultan válidas para obtener vacunas capaces

de inducir una respuesta inmune, que aún sin causar la enfermedad, nos protejan de posibles infecciones. Queda en manos de los investigadores quienes, con su conocimiento del área e ingenio, deberán escoger las mejores condiciones para la obtención de una vacuna efectiva contra el patógeno que buscan combatir.

Del laboratorio al mundo: etapas para la obtención de una vacuna

Diseñar una nueva vacuna es un proceso biotecnológico desafiante. En primer lugar, el biotecnólogo necesita conocer en detalle al agente infeccioso para el cual es necesario desarrollar una vacuna. No basta con conocer de qué tipo de microorganismo se trata, sino que es necesario conocer desde su secuencia genética y regiones conservadas entre cepas y a lo largo del tiempo, hasta los mecanismos que utiliza para generar la infección, así como la respuesta inmune que es capaz de desencadenar una vez producida la infección (Stern, 2020). Por otro lado, es necesario recopilar toda la información que ya exista sobre intentos previos para la obtención de una vacuna contra el patógeno en estudio o desarrollos semejantes. Es importante conocer las distintas plataformas de vacunas que previamente se han evaluado, las vías de administración, las dosis empleadas, los antígenos seleccionados, el empleo de adyuvantes, entre otros. Toda esta información a nivel mundial está disponible en bases de datos científicas como Pubmed® (National Library of Medicine, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>). A partir de esta información, el biotecnólogo puede realizar un primer diseño racional del prototipo de vacuna a partir del uso de herramientas bioinformáticas, conocido como análisis *in-silico*. Esta primera etapa, podrá definir, cuáles serán los antígenos que incorpore en su vacuna, qué tecnología empleará para su desarrollo, si incorporará algún tipo de adyuvante, entre otras (Stern, 2020). Luego de realizado el diseño, el biotecnólogo puede participar en el desarrollo de la vacuna según el tipo de tecnología que se escoja utilizar, empleando un sinfín de técnicas de laboratorio. Entre las más utilizadas encontramos técnicas de biología molecular y celular e ingeniería genética. Por ejemplo, para la obtención de un antígeno proteico para utilizarlo en una vacuna a subunidades se utilizan técnicas como clonado de genes, transformación de microorganismos, producción y purificación de proteínas y ácidos nucleicos, entre otras. Para esta etapa también es importante adquirir habilidades en el manejo de técnicas de microbiología, cultivo de células eucariotas e incluso técnicas para la evaluación de la pureza y calidad de los componentes de la vacuna.

Una vez desarrollado el candidato vacunal es necesario realizar una evaluación exhaustiva que comprende varias etapas hasta que llega al mercado (Stern, 2020). La evaluación de una nueva vacuna puede fallar en cualquiera

de estas etapas, pudiendo ser necesario modificar algún aspecto del desarrollo o comenzar nuevamente con el proceso de diseño. Las diferentes etapas de evaluación de una vacuna tienen como objetivo conocer su eficacia, pero como prioridad garantizar su seguridad. Para esto, los estudios son realizados en fases. Primero se realiza la fase preclínica y luego las fases clínicas I, II, III y IV (OMS, 2020).

La fase preclínica incluye ensayos que permiten estudiar el tipo de respuesta inmune que induce la vacuna, así como su eficacia para proteger de la infección contra el patógeno objetivo. Para cumplir esta etapa, el biotecnólogo podrá realizar evaluaciones *in vitro*, como ensayos en cultivos celulares, e *in vivo*, empleando modelos animales no humanos. Son empleadas también técnicas inmunoquímicas que, en muchos casos requieren de la utilización de anticuerpos monoclonales y policlonales, los cuales, también son un producto biotecnológico. En esta fase también se recopilan datos sobre la seguridad del candidato vacunal a partir de la evaluación de efectos adversos tóxicos y farmacológicos. Los resultados experimentales sobre la eficacia y tolerancia en un modelo animal apoyan su posterior evaluación en humanos.

En la fase clínica I se evalúa la seguridad de una nueva vacuna y la capacidad de generar una respuesta inmune en un pequeño número de personas sanas, en general entre 20 y 100 adultos. Para esto se realizan ensayos empleando diferentes dosis y vías de administración (OMS, 2020).

En la fase clínica II se evalúa una vacuna que fue considerada segura en la fase I y que necesita ser evaluada en un grupo más grande de personas (generalmente entre 100 y 300) para monitorear una vez más la seguridad y también los ensayos que determinaran la eficacia de la vacuna. Las metas de las pruebas de fase II son informar la dosis óptima y el esquema de vacunación que se utilizará en su aplicación final (OMS, 2020).

La fase clínica III tiene como objetivo evaluar de forma más completa la seguridad y la eficacia en la prevención de las enfermedades en una mayor cantidad de voluntarios (entre 300 y 30 000 personas) de un mismo país o de varios países que participan en un estudio multicéntrico adecuadamente controlado. Las pruebas de fase III son aleatorias y doble ciego, es decir, involucran personas que desconocen si se les aplica la vacuna experimental o el placebo (el placebo puede ser una solución salina, una vacuna para otra enfermedad o alguna otra sustancia). En general es el paso anterior a la aprobación de una vacuna (OMS, 2020).

Una vez que se desarrollaron secuencialmente las fases clínicas I, II y III la agencia gubernamental revisa los datos de todos los ensayos y la información de la solicitud de licencia antes de la autorización de la vacuna. La revisión reglamentaria puede suceder mientras ha comenzado la fabricación de la vacuna.

La fase clínica IV comprende estudios que se llevan a cabo después de la aprobación y publicación de una vacuna en uno o varios países. Estos estudios tienen como objetivo monitorear la efectividad de la vacuna en

condiciones del «mundo real». En general son estudios de efectividad, sin embargo, se siguen monitoreando los efectos adversos y secundarios que pudieran surgir (Suvarna, 2010). Las vacunas aprobadas contra SARS-CoV-2, que se están utilizando en la población, se encuentran en esta etapa.

El desarrollo de una nueva vacuna preventiva puede llevar hasta más de 10 años para superar todas las fases. Sin embargo, hemos sido testigos de cómo frente a la pandemia del COVID-19, fue posible desarrollar vacunas de distintas tecnologías a tan solo 11-18 meses de secuenciado por primera vez el virus (Milken Institute, 2021). Estos tiempos lograron acortarse no solo debido al esfuerzo unificado de la comunidad científica para hacer frente a esta situación y al surgimiento de alianzas mundiales de inversión público-privadas, sino también gracias a una gran cantidad de conocimientos y avances científicos previos en materia del patógeno y en el área de la vacunología, que sirvieron como base para estos rápidos desarrollos.

CONCLUSIÓN

Los biotecnólogos pueden participar en las distintas etapas del desarrollo de una vacuna. Así también, pueden participar en etapas posteriores a la aprobación, tales como el escalado y la producción industrial de la vacuna. Para esto, como profesional de la biotecnología es importante conocer sobre propiedad intelectual, transferencia tecnológica y licencias de productos. También, resulta fundamental adquirir habilidades de comunicación que les permitan divulgar sus resultados tanto ante la comunidad científica y empresas, como frente a toda la sociedad.

Como hemos develado en este capítulo, a lo largo de la carrera el profesional en biotecnología puede desarrollar diversas habilidades y competencias que le permitan contribuir al desarrollo de nuevas vacunas y así, a mejorar la salud de toda la sociedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.;...; WALTER, P.R.** (2002). Introduction to Pathogens. En *Molecular Biology of the Cell*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26917/>
- ARYA, H.** (2021). Key steps in the selection of vaccine targets. En Bhatt, T.K. y Nimesh, S. (Eds.), *The Design & Development of Novel Drugs and Vaccines* (pp. 9395). Academic Press.
- CANOÛ, E.; LAUNAY, O.** (2019). Histoire et principes de la vaccination. *Revue des Maladies Respiratoires*, (36), 74–81.
- CDC – CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION** (s.f.). Immunization: The Basics. <https://www.cdc.gov/vaccines/vac-gen/immunz-basics.htm>
- EFIS – EUROPEAN FEDERATION OF IMMUNOLOGICAL SOCIETIES** (2009). Your Amazing Immune System. How it Protects Your Body. [t.ly/qfV2](https://www.efis.europa.eu/your-amazing-immune-system)
- FAINBOIM, L.; GEFFNER, J.** (Eds.) (2011). *Introducción a la inmunología humana*. Médica Panamericana.
- KENEDDY, M.A.** (2010). A brief review of the basics of immunology: the innate and adaptive response. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40(3), 369–379.
- MCCULLERS, J.A.** (2007). Evolution, benefits, and shot comings of vaccine management. *Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy*, 13(7 Suppl B), S2–6.
- MILKEN INSTITUT** (2021). COVID–19 vaccine tracker. <https://www.covid-19vaccinetracker.org/#Top-of-Page>
- NASCIMENTO, I.P.; LEITE, L.C.C.** (2012). Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45(12), 1102–1111.
- OMS – ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD** (2020). Vacunas e inmunización: ¿qué es la vacunación? [t.ly/4mZa](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/immunization)
- OMS – ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD** (2021). Los distintos tipos de vacunas que existen. [t.ly/EyRV](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/immunization)
- POLLARD, A.J.; BIJKER, E. M.** (2020). A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nature Reviews Immunology*, (21), 83–100.
- RAPPUOLI, R.; PIZZA, M.; DEL GIUDICE, G.; DE GREGORIO, E.** (2014). Vaccines, new opportunities for a new society. *National Academy of Sciences*, 111(34), 12288–12293.
- STERN, P.L.** (2020). Key steps in vaccine development. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 125(1), 17–27.
- SUVARNA, V.** (2010). Phase IV of Drug Development. *Perspectives in Clinical Research*, 1(2), 57–60.

5 Contribuciones de la biotecnología moderna al desarrollo de vacunas veterinarias

DIEGO FONTANA

INTRODUCCIÓN

La vacunación es el método más eficiente para la prevención y el control de enfermedades infecciosas. Luego del acceso al agua potable y la utilización de jabón en la vida cotidiana de las personas, podemos decir que la vacunación es la contribución de la medicina moderna que más vidas ha salvado durante los últimos dos siglos. Aunque se ha discutido ampliamente en el capítulo anterior de este libro, podemos volver a destacar aquí la definición de vacuna: es todo aquel preparado o formulación terapéutica o profiláctica que logra estimular de forma activa el sistema inmune del individuo vacunado, es decir de generar sus propias herramientas para combatir a un agente infeccioso (o antígeno de algún tumor, en caso de las vacunas terapéuticas para cáncer).

A lo largo de la historia, las vacunas veterinarias siguieron el mismo camino que las vacunas para uso humano en cuanto a su desarrollo o descubrimiento respecta. Importantes científicos como Jenner, Pasteur, Koch y muchos otros aplicaron el método científico al conocimiento popular que ya existía en la época como «nadie contrajo la enfermedad dos veces, o si lo hizo, la segunda vez nunca fue fatal» (Tizard, 2021) o a prácticas comunes que venían siendo realizadas por siglos que se denominaban «variolación». Estas consistían en inyectar o poner en contacto un individuo sano con pus o algún fluido de un animal enfermo, por ejemplo, vacas con viruela. Los individuos así tratados luego no contraían la enfermedad o lo hacían muy levemente. Estas prácticas son el origen de lo que hoy conocemos como vacunas atenuadas (Josefsberg & Buckland, 2012; McVey & Shi, 2010).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Mundial de la Salud Animal (OIE, *Office International des Epizooties*) han acuñado el término «Una Salud» con el objetivo de promover acciones multidisciplinarias que logren una salud óptima para las personas, los animales y el medio ambiente. En ese sentido, la vacunación tanto de animales de compañía como de producción es una herramienta clave para lograrlo. Tanto es así que durante el último siglo la vacunación ha logrado reducir y controlar el impacto de enfermedades infecciosas veterinarias.

El objetivo del presente capítulo es discutir brevemente las contribuciones de la biotecnología moderna al desarrollo de vacunas para uso animal, demostrando como nuestra disciplina es una herramienta fundamental para

la producción de más y mejores vacunas, generando un profundo impacto en la salud, no solo de los animales involucrados sino también de los seres humanos en general (tabla 5.1).

Tabla 5.1. Tipos de vacunas y sus principales características

Tipo de vacuna	Características principales	¿Requiere adyuvante en su formulación?*	Ejemplo
Microorganismo atenuado «convencional»	Utiliza el microorganismo completo «debilitado aleatoriamente» para que no enferme pero genere una robusta respuesta inmune	No	cepa 19 de <i>Brucella abortus</i>
Microorganismo atenuado generado por ingeniería genética	Utiliza el microorganismo completo, «debilitado racionalmente» modificando su genoma por ingeniería genética, reduciendo su virulencia pero manteniendo su inmunogenicidad	No	cepa TW928 de <i>Streptococcus equi</i>
Microorganismo inactivado	Utiliza el microorganismo completo, pero «muerto» o inactivado por técnicas físicas o químicas.	Sí	Rabia
Toxoide	El inmunógeno es una toxina bacteriana inactivada	Sí	Antitetánica

Subunidad	Compuesto por una porción del microorganismo, generalmente una proteína estructural de importancia antigénica, expresadas de forma recombinante	Sí	PorcilisPCV2 (Intervet) o CircoFLEX (Boehringer) para Circovirus porcino (PCV2)
Vectores virales	Utiliza un virus no patógeno como vector de transferencia o «transporte» de información genética del agente etiológico	No	Virus de la viruela del canario (Canary pox) como vector vacunal para moquillo canino y felino, rabia, leucemia felina, entre otros
Ácidos nucleicos	Fragmento de ADN o ARN con una formulación especial para lograr la expresión <i>in vivo</i> de una o mas proteínas inmunogénicas del agente etiológico	No	West Nile Innovator (Zoetis): virus del Nilo Occidental en equinos

*En general para estas plataformas, aunque existen excepciones y casos particulares.

En la actualidad, la gran mayoría de las vacunas veterinarias disponibles en el mercado siguen utilizando tecnología que hoy podríamos definir como «clásicas» o «convencionales» ya que están basadas en microorganismos atenuados, inactivados o toxoides.

VACUNAS ATENUADAS CONVENCIONALES

Este tipo de vacunas están basadas en bacterias o virus que fueron «debilitados» por sucesivos pasajes en un hospedador no natural o en cultivo *in vitro*, generándose mutaciones aleatorias en su genoma que producen que su virulencia y patogenicidad se vea reducida, pero se mantenga su capacidad de replicación e inmunogenicidad. Un ejemplo es la cepa 19 de *Brucella abortus*, una importante enfermedad bovina cuya vacunación es obligatoria en la Argentina. Esta cepa vacunal fue obtenida en 1923 a partir de leche de vacas Jersey que fue accidentalmente olvidada a temperatura ambiente por un año. Esta cepa luego fue evaluada, demostrando su baja virulencia pero su elevada eficacia en la protección contra esta enfermedad (Dorneles, Sriranganathan & Lage, 2015). Con las técnicas modernas de biología molecular e ingeniería genética es posible generar cepas mutantes diseñadas de forma racional y no de forma aleatoria, como se hizo durante siglos (ver próxima sección).

VACUNAS BASADAS EN MICROORGANISMOS MODIFICADOS POR INGENIERÍA GENÉTICA

La posibilidad de secuenciar genomas completos de microorganismos y los estudios funcionales de cada uno de los genes nos ha permitido diseñar bacterias o virus genéticamente modificados, con interesantes características como candidatos vacunales. En términos generales el objetivo final es el mismo que el obtenido con las vacunas atenuadas convencionales: lograr reducir la virulencia de un microorganismo y que esta nueva cepa pueda inducir una eficaz respuesta inmune sin generar la enfermedad en el animal vacunado.

Un ejemplo de esto es la vacuna Equilis StrepE (MSD Animal Health) para equinos, la cual protege contra una enfermedad muy contagiosa denominada adenitis equina. Esta vacuna viva atenuada es preparada con una cepa bacteriana de *Streptococcus equi* denominada TW928 la cual posee una delección de 932 nucleótidos en uno de sus genes (esto simplemente significa que a un gen de la bacteria se le removió una parte para que ya no sea funcional).

Esta mutante fue construida por ingeniería genética, generando una cepa vacunal muy eficaz.

Otro ejemplo es el desarrollo de una cepa quimérica del Circovirus Porcino (PCV) como candidato vacunal para la inmunización de cerdos. En lo que respecta al PCV, la cepa 1 no es patogénica y no genera enfermedad en los animales. En cambio, el PCV2 si lo es, generando grandes pérdidas en la producción de cerdos para consumo. En esta cepa vacunal atenuada se insertó el gen de la proteína de cápside del PCV2 en el genoma del PCV1, generando de esta manera una nueva cepa viral quimérica denominada PCV1-2 (Fenaux *et al.*, 2004; Meeusen *et al.*, 2007). Cuando los animales son inmunizados con ella, la enfermedad no se genera, pero este virus es capaz de inducir la expresión de la proteína del PCV2 *in vivo*, estimulando el sistema inmune y generando protección.

VACUNAS INACTIVADAS Y TOXOIDES

Las vacunas inactivadas se basan en la producción del agente etiológico de la enfermedad y su posterior inactivación por métodos físicos o químicos. Normalmente, estos procesos reducen su capacidad inmunogénica debido a que las proteínas estructurales de los microorganismos se ven afectadas durante el proceso. Es por esto que tanto las vacunas virales inactivadas como las bacterianas (denominadas bacterinas) son formuladas con adyuvantes, que son preparados que aumentan la capacidad de los antígenos de estimular la respuesta inmune (Dellagostin, Felix y Jorge, 2017; Jorge y Dellagostin, 2017; Meeusen *et al.*, 2007).

Por otro lado, existen vacunas basadas en toxoides. Estos son moléculas estructurales de las bacterias denominadas toxinas, inactivadas por calor o por compuestos químicos. Si logramos inducir anticuerpos contra estas moléculas, el cuerpo del animal vacunado estará preparado para protegerse durante una futura infección.

Tanto para las vacunas inactivadas como para las basadas en toxoides es necesario cultivar los microorganismos en cuestión para luego proceder a su inactivación, recuperación y purificación. En relación con esto, en las últimas décadas la biotecnología moderna ha generado importantes avances tecnológicos, con nuevas técnicas de cultivo en biorreactor como así también la optimización de medios de cultivos específicos para cada microorganismo, logrando incrementar considerablemente las productividades y de esta manera reducir los costos de producción por dosis (Ryan & Walsh, 2012).

VACUNAS A SUBUNIDAD

Como ya ha sido descrito previamente en este libro, existen vacunas basadas en subunidades proteicas, para lo cual se selecciona una o más proteínas de importancia inmunogénica del microorganismo para formar parte de la formulación vacunal. Utilizando técnicas de ADN recombinante y sistemas heterólogos de expresión se lleva a cabo la producción a gran escala de dichas proteínas. Dependiendo de las características de las proteínas deseadas, esos sistemas heterólogos pueden ser bacterias, levaduras, células de insecto, células animales o plantas. En todos los casos el funcionamiento es similar: se inserta el gen o secuencia codificante de ADN en alguno de los tipos celulares mencionados y las células expresan dicha proteína que luego es recuperada y purificada por diversas técnicas.

En la vacuna Bayovac de Bayer, utilizada para la peste porcina, se utilizan células de insecto cultivadas *in vitro* para producir de forma recombinante la proteína E2 del virus de la peste porcina. Una vez purificada, esta proteína es formulada con un adyuvante oleoso. Este es un ejemplo sencillo de una vacuna a subunidad proteica (Ryan & Walsh, 2012).

Otro tipo de vacuna viral a subunidad son las que están basadas en partículas pseudovirales o VLPs (por sus siglas en inglés: *Virus-Like Particles*). Las VLPs son estructuras supramacromoleculares conformadas por las proteínas estructurales de un virus pero que carecen de los ácidos nucleicos en su interior. Podríamos decir que son «virus vacíos». De esta forma, no existe ninguna posibilidad de que las VLPs generen replicación viral o enfermedad ya que no poseen la información genética para hacerlo (Grgacic & Anderson, 2006; Noad & Roy, 2003). Las VLPs se producen expresando en un sistema de expresión heterólogo una o más de las proteínas estructurales de un virus. Por sus características intrínsecas, esas proteínas se autoensamblan en cápsides virales. Vacunas a base de VLPs existen en el mercado desde la década del 80, cuando se aprobó para uso humano Recombivax HB (Merck), contra la Hepatitis B. En lo que respecta a las vacunas veterinarias, en las últimas décadas cientos de candidatos vacunales han sido desarrollados utilizando esta tecnología (Crisci, Bárcena y Montoya, 2012; Liu *et al.*, 2011) y existen productos en el mercado de la salud animal como algunas vacunas contra el PCV2, como PorcilisPCV2 (Intervet) y Ingelvac CircoFLEX (Boehringer Ingelheim Vetmedica) (Ryan & Walsh, 2012). En ambos casos, la proteína de la cápside del PCV2 es producida en células de insecto y purificada por técnicas cromatográficas. Posteriormente, cambiando las condiciones fisicoquímicas del buffer donde está la proteína, esta se autoensambla para formar las VLPs.

VECTORES VIRALES RECOMBINANTES

Estas plataformas biotecnológicas lo que hacen es utilizar un virus no patógeno para la especie de destino como vector de transferencia (o transporte) del gen de una proteína para la cual se quiere generar respuesta inmune. Al ser inmunizado con ese vector viral recombinante, el animal no genera enfermedad, pero se logra la expresión *in vivo* de una o más proteínas específicas de la enfermedad para la cual se necesita protección. De esta forma, las células del sistema inmune que patrullan de forma constante el cuerpo encuentran estas proteínas y activan sus mecanismos de defensas y generación de memoria inmunológica.

Uno de los vectores virales más utilizados para el desarrollo de vacunas veterinarias es el virus de la viruela del canario (Canarypox virus). Existen vacunas comerciales contra el moquillo canino y felino, la rabia, el virus del Nilo Occidental y la leucemia felina, utilizando esta plataforma tecnológica (Poulet *et al.*, 2007; Ryan & Walsh, 2012).

VACUNAS A BASE DE ÁCIDOS NUCLEICOS (ADN/ARN)

El funcionamiento de estas vacunas es muy similar al de los vectores virales, ya que los animales vacunados son inyectados con un vector de ADN o un segmento de ARN que posee la información genética para expresar *in vivo* las proteínas de interés. Estas proteínas son reconocidas como extrañas por el cuerpo y se dispara la respuesta inmune deseada (Redding & Weiner, 2009). En el caso de las vacunas de ADN, las células que captan los ácidos nucleicos en el sitio de inyección tienen que, en primera instancia, transcribirlos a ARN para que este posteriormente sea traducido a proteínas. Por el contrario, en las vacunas a base de ARN esta molécula se encuentra en forma de ARN mensajero, por lo cual está listo para ser traducido por los ribosomas y transformarse en proteínas. Estas plataformas tecnológicas poseen muchísimas ventajas comparativas con las tecnologías previamente descritas y un potencial enorme para ser aplicadas en el mercado de las vacunas. Esto se han podido ver durante la pandemia del COVID-19 durante la cual se aprobaron en el año 2020, por primera vez en la historia, licencias de emergencia para dos vacunas humanas anti SARS-COV-2, que están basadas en la tecnología del ARNm (Pfizer y Moderna).

Actualmente, existen tres vacunas aprobadas basadas en vectores de ADN para la prevención de enfermedades infecciosas veterinarias. Dos de ellas son para peces: una para el virus de la necrosis hematopoyética del salmón (aprobada desde 2005) y una contra una enfermedad que afecta el páncreas de los peces, causada por un tipo particular de alphavirus del salmón (aprobada en 2016). Una tercera vacuna, aprobada en Estados Unidos

desde 2005, tiene el nombre comercial de West Nile Innovator y es utilizada para combatir el virus del Nilo Occidental en equinos (Fomsgaard & Liu, 2021; Ryan & Walsh, 2012).

DIVA

En el campo de las vacunas para salud animal existe un término denominado DIVA, por sus siglas en inglés (*Differentiating Infected from Vaccinated Animals*), cuyo objetivo es remarcar la importancia de lograr diferenciar dentro de un grupo de animales vacunados aquellos que también han sido infectados por un microorganismo. Esto es importante en algunas enfermedades cuya vigilancia epidemiológica es obligatoria. Las vacunas que poseen características DIVA son aquellas que logran producir una respuesta inmune diferencial a la inducida durante una infección y para la cual existe, por otra parte, una técnica de diagnóstico para poder evaluarla. Esto es obligatorio, por ejemplo, para la fiebre Aftosa: para analizar si el virus está circulando en una región y tomar medidas acordes para su control, se llevan a cabo test serológicos de rutina buscando detectar anticuerpos que revelen la presencia viral. Por lo tanto, esos diagnósticos tienen que buscar anticuerpos contra proteínas que no estén presentes en las vacunas utilizadas, de forma de poder detectar si, además de haber sido vacunado, esos animales fueron o están infectados con el virus. De esta forma, el desarrollo de vacunas con características DIVA es de vital importancia para estas enfermedades. En este contexto, está claro que las vacunas de nueva generación, que utilizan tecnología de ADN recombinante y para las cuales podemos llevar a cabo un diseño racional, eligiendo que proteínas forman parte de la formulación y cuáles no, son las candidatas perfectas para este tipo de aplicación (Liu *et al.*, 2013; Meeusen *et al.*, 2007; Pasick, 2004).

CONCLUSIONES

Como hemos visto a lo largo de todo este capítulo, la biotecnología es una disciplina de central importancia en el desarrollo y producción de vacunas. Esto es así ya que el proceso mismo de elaboración de una vacuna es un perfecto ejemplo de un «proceso biotecnológico»: aplicamos tecnología para la producción de un microorganismo o para la expresión de una parte de un microorganismo, para que luego este se convierta en un producto, una vacuna. De esta forma, vemos como los avances en biotecnología generan un rápido avance en las plataformas tecnológicas disponibles para el desarrollo de nuevos candidatos vacunales que son aplicados tanto para la vacunación de seres humanos como para la vacunación de animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRISCI, E.; BÁRCENA, J.; MONTOYA, M. (2012). Virus-like particles: the new frontier of vaccines for animal viral infections. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 148(3-4), 211-225.
- DELLAGOSTIN, O.A.; FELIX, S.R.; JORGE, S. (2017). *Recombinant Veterinary Vaccines. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Human and Animal Health Applications*. Elsevier B.V.
- DORNELES, E.M.S.; SRIRANGANATHAN, N.; LAGE, A.P. (2015). Recent advances in *Brucella abortus* vaccines. *Veterinary Research*, 46(1), 1-10.
- FENAUX, M.; OPRIESSNIG, T.;...; MENG, X.J. (2004). A Chimeric Porcine Circovirus (PCV) with the Immunogenic Capsid Gene of the Pathogenic PCV Type 2 (PCV2) Cloned into the Genomic Backbone of the Non-pathogenic PCV1 Induces Protective Immunity against PCV2 Infection in Pigs. *Journal of Virology*, 78(12), 6297-6303.
- FOMSGAARD, A.; LIU, M.A. (2021). The Key Role of Nucleic Acid Vaccines for One Health. *Viruses*, 13(2), 1-15.
- GRGACIC, E.V.L.; ANDERSON, D.A. (2006). Virus-like particles: passport to immune recognition. *Methods* (San Diego, Calif.), 40(1), 60-65.
- JORGE, S.; DELLAGOSTIN, O.A. (2017). The development of veterinary vaccines: a review of traditional methods and modern biotechnology approaches. *Biotechnology Research and Innovation*, 1(1), 6-13.
- JOSEFSBERG, J.O.; BUCKLAND, B. (2012). Vaccine process technology. *Biotechnology and Bioengineering*, 109(6), 1443-1460.
- LIU, F.; GE, S.;...; WANG, Z. (2011). *Virus-like particles: potential veterinary vaccine immunogens*. Research in Veterinary Science.
- LIU, F.; WU, X.;...; WANG, Z. (2013). *Virus-like particles: Promising platforms with characteristics of DIVA for veterinary vaccine design*. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.
- MCVEY, S.; SHI, J. (2010). Vaccines in Veterinary Medicine: A Brief Review of History and Technology. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 40(3), 381-392.
- MEEUSEN, E.N.T.; WALKER, J.;...; JUNGENSEN, G. (2007). Current status of veterinary vaccines. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 489-510.
- NOAD, R.; ROY, P. (2003). Virus-like particles as immunogens. *Trends in Microbiology*, 11(9), 438-444.
- PASICK, J. (2004). Application of DIVA vaccines and their companion diagnostic tests to foreign animal disease eradication. *Animal Health Research Reviews*, 5(2), 257-262.

- POULET, H.; MINKE, J.;...; AUDONNET, J.-C.** (2007). Development and registration of recombinant veterinary vaccines. The example of the canarypox vector platform. *Vaccine*, 25(30), 5606–5612.
- REDDING, L.; WEINER, D.B.** (2009). DNA vaccines in veterinary use. *Expert Review of Vaccines*, 8(9), 1251–1276.
- RYAN, M.P.; WALSH, G.** (2012). Veterinary-based biopharmaceuticals. *Trends in Biotechnology*, 30(12), 615–620.

6 Anticuerpos: una herramienta clave en diagnóstico e investigación

MARÍA FLORENCIA ROSSETTI · MARCOS REYES ·
VIRGINIA M. TSCHOPP

No debemos dejar que se crea que todo progreso científico se reduce a mecanismos, a máquinas, a engranajes... Yo no creo que el espíritu de aventura esté en peligro de desaparecer de nuestro mundo. Si algo veo de vital a mi alrededor, es precisamente ese espíritu de aventura, aparentemente inextinguible y que tanto se parece a la curiosidad...

MARIE CURIE

INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos (Ac), también conocidos como inmunoglobulinas (Ig), son proteínas del sistema inmunológico que circulan por la sangre y son capaces de reconocer moléculas extrañas para el organismo (virus, bacterias). Una vez que el organismo se expone a dichos compuestos exógenos, también llamados antígenos (Ag), los anticuerpos son producidos por los linfocitos B para atacarlos y persisten en la sangre, ofreciendo protección a largo plazo en caso de que volvamos a infectarnos. Estos anticuerpos generados por nuestro organismo reconocerán una porción de la molécula extraña que es reconocida por el sistema inmunitario y se unirán a ella (Maddur *et al.*, 2020). Esta porción se denomina epítipo o determinante antigénico. Los epítipos son secuencias pequeñas de aminoácidos de la cadena primaria de una proteína o formados por una secuencia de aminoácidos a partir de la conformación terciaria de una proteína. Un anticuerpo puede reconocer uno o más epítipos del mismo antígeno. La representación clásica de un anticuerpo (figura 6.1) es una molécula con forma de Y que está compuesta por cuatro polipéptidos (dos cadenas livianas y dos pesadas). Cada punta de la Y (parátipo) se une específicamente a un epítipo de un antígeno (Lipman *et al.*, 2005).

Con los avances biotecnológicos en materia de biología molecular y celular, desde hace años los anticuerpos también pueden ser producidos en el laboratorio y utilizados como herramientas valiosas y altamente confiables

para la detección y cuantificación de blancos específicos. Los anticuerpos pueden ser policlonales (PABs; reconocen varios epítomos de un mismo antígeno) o monoclonales (MABs; reconocen un único epítomo) (figura 6.1). Los primeros se producen *in vivo* inyectando un inmunógeno (sustancia que desencadena una respuesta inmunológica y que contiene el antígeno) en un animal; mientras que los segundos se producen en modelos *in vitro* utilizando cultivo celular. Ambas clases de anticuerpos son utilizados en numerosos ensayos de investigación básica y aplicada, pero también son de utilidad en las ciencias médicas para el diagnóstico clínico y seguimiento terapéutico, tipos de tratamientos, entre otros (Lipman *et al.*, 2005). En este capítulo describiremos brevemente los pasos a seguir en el laboratorio para la producción de anticuerpos y contaremos algunos de los desarrollos llevamos a cabo en el Instituto de Salud y Ambiente del Litoral (ISAL), CONICET-Universidad Nacional del Litoral.

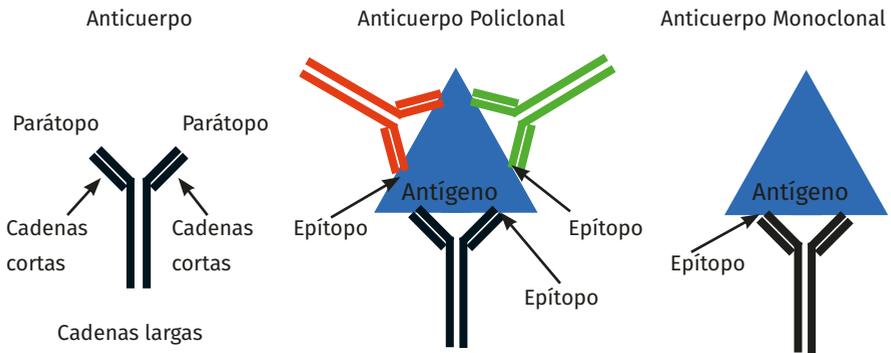


Figura 6.1. Anticuerpos monoclonales y policlonales. La representación clásica de un anticuerpo es una molécula con forma de Y que está compuesta por cuatro polipéptidos (dos cadenas livianas y dos pesadas). Cada punta de la

Y (parátomo) se une específicamente a un epítomo de un antígeno. Los anticuerpos pueden ser policlonales (reconocen varios epítomos de un mismo antígeno) o monoclonales (reconocen un único epítomo)

OBTENCIÓN DEL ANTÍGENO

Cuando se plantea la posibilidad de generar un Ag para la obtención de Ac, ¿en qué debemos enfocarnos? En primer lugar, lo que debemos conocer son las características principales de la proteína que queremos detectar mediante los anticuerpos a generar: su locación celular (nuclear, citoplasmática, transmembrana), masa molecular, conformación terciaria/cuaternaria, familia a la que pertenece, si se encuentra soluble o anclada a la membrana plasmática de la célula u organelas, entre otras. Por otro lado, debemos saber en qué tejido se expresa en mayor cantidad. Teniendo en cuenta que para la producción de anticuerpos en el laboratorio, debemos conocer la secuencia nucleotídica que codificará a la proteína de interés y debemos obtener dicha proteína a partir de una muestra o tejido, también es necesario formularnos ciertas preguntas: ¿es conocida la secuencia de ARNm de la misma?; ¿de qué especie podré obtenerlo? ¿La secuencia proteica en esta especie es similar a la que yo quiero detectar en mi especie de interés? Una vez conocida esta información, nos abocamos al estudio más específico de la misma (Hendriksen *et al.*, 2005).

En las diferentes bases de datos disponibles (*Nucleotide*, NCBI, otras) podemos encontrar la secuencia proteica y nucleotídica de la proteína en estudio (como también todas las variantes de la misma). Una vez que encontramos dicha secuencia, la podemos estudiar en profundidad en alguno de los diferentes softwares existentes para tal fin (BLAST NCBI en sus diferentes versiones). Lo más importante de este estudio es identificar y seleccionar para amplificar y expresar como antígeno una porción de la misma que sea hidrofílica, que represente un fragmento de la proteína original que pueda ser detectada mediante el uso de anticuerpos (es decir, que quede expuesta para la unión del Ac), que no genere dímeros con otras proteínas, que su secuencia no sea similar a otra familia de proteínas (para evitar futuras marcaciones inespecíficas), y que además, en caso de obtenerla de una especie que no fuera en la que voy a utilizar los anticuerpos, sea similar entre ellas. Es decir, que la porción que elija sea conservada entre especies.

Como estrategia para la obtención del Ag utilizamos la metodología de ADN recombinante que permite generar proteínas de fusión (figura 6.2). Las mismas presentan la secuencia del fragmento de interés (la que posteriormente queremos detectar con el anticuerpo generado) unido a una proteína que nos servirá como «gancho o *tag*» para poder purificarla. La proteína *tag* varía según el vector de expresión que utilizemos. La elección del vector de expresión puede aumentar significativamente la actividad y cantidad de proteína blanco en la fracción soluble. Por ejemplo, los vectores pGEX, expresan una proteína de fusión a *Glutation S transferase* (GST); estos son vectores versátiles, expresan proteínas de fusión generalmente solubles y de fácil purificación. Los vectores pET 32 por su parte, expresan proteínas de fusión

a tioredoxina (TRX), que resultan altamente solubles también, lo que facilita su posterior purificación y utilización. Para clonar estos vectores y expresar la proteína de interés se necesita introducirlos dentro de una bacteria que tenga la maquinaria necesaria tanto para la replicación del vector como para la expresión de proteínas. En este caso, la bacteria huésped elegida es la *E. coli*, la cual se encuentra modificada genéticamente acorde a la necesidad de cada vector.

Las condiciones de cultivo para obtener un mayor rendimiento de proteínas (mayor expresión) con respecto a la biomasa cosechada (masa de bacterias obtenida por volumen de cultivo) se prueba empíricamente y depende de muchos factores, entre los que podemos mencionar: el medio de cultivo que utilizamos (Luria Bertani, *Terrific Broth*), el agregado de suplementos en el medio (aminoácidos especiales, glicerol), la temperatura y el tiempo de cultivo, la concentración del inductor de expresión, cuán nociva es la proteína de fusión para la bacteria, etcétera.

La purificación es un paso muy importante que va a depender de la proteína *tag* que hayamos expresado (figura 6.2). En general se utilizan columnas pre-empacadas de diferentes volúmenes que contienen el ligando de la proteína *tag*. En el caso de la GST-*tag* se utiliza *Glutathione Sepharosa* para su purificación. La optimización de las condiciones de este procedimiento es fundamental para obtener una elevada pureza y concentración del producto final, y mayor rendimiento total. Por último, debemos chequear mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) el tamaño molecular de lo obtenido, la pureza, etc. ¡Si todo salió como se esperaba, resta acondicionar la proteína y utilizarla como Ag para la producción de anticuerpos!... ¡Sí, recién ahora logramos obtener el Ag!

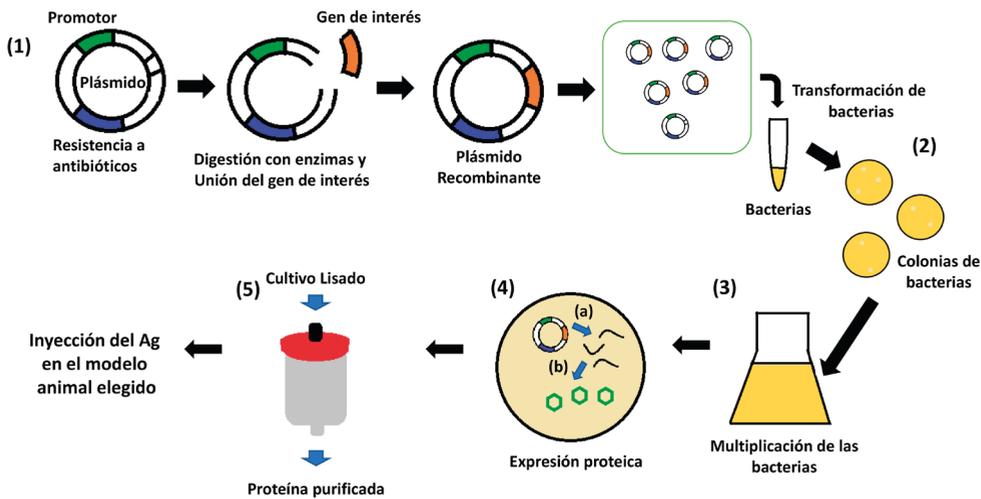


Figura 6.2. Obtención del antígeno. (1) El gen de interés es insertado en el plásmido dando lugar al plásmido recombinante que será introducido en las bacterias (transformación). (2) Algunas bacterias incorporan el plásmido (tienen resistencia a antibióticos), otras no (no sobreviven). Se dejan crecer en un medio de cultivo sólido y cada bacteria da lugar a una colonia. (3)

Las bacterias se replican a un medio de cultivo líquido, donde se multiplican. (4) Se induce la expresión de la proteína de interés. En el cultivo, el ADN se transcribe a ARNm (a) y este se traduce a proteína (b). (5) Las bacterias son lisadas y la proteína de interés purificada mediante columnas de afinidad, para luego ser inyectada en el modelo animal elegido (conejo, cabra, oveja)

OBTENCIÓN DE ANTICUERPOS

La elección de la estrategia de producción de Ac se basa en la utilidad que le vamos a dar, la especificidad que necesitemos, la cantidad de estudios o ensayos en los que estará implicado, tecnología disponible, costos, entre otros.

Anticuerpos policlonales (Pabs)

Los Pabs son una mezcla de distintos anticuerpos monoclonales generados por diferentes líneas de células plasmáticas secretoras de anticuerpos. Esta mezcla de Ig se dirige a diferentes epítopos de un antígeno específico. Un antígeno inyectado en animales induce una respuesta inmune que activa y diferencia las células B para que puedan producir y secretar altos niveles de anticuerpos en la sangre (antisuero). Para la producción de antisueros, los animales generalmente se inyectan al menos dos veces con antígeno. La

segunda inyección activará las células de memoria que producen anticuerpos de clase IgG específicos contra el antígeno. Las células de memoria también experimentan una maduración por afinidad, lo que da como resultado un conjunto de anticuerpos con una afinidad promedio más alta. La maduración por afinidad se produce debido a mutaciones en las regiones variables del gen de las Ig, lo que da como resultado células B con sitios de unión a antígenos ligeramente alterados. Al volver a exponerse al antígeno, las células B capaces de producir anticuerpos con sitios de unión al antígeno de mayor afinidad serán estimuladas para que proliferen y produzcan más anticuerpos que sus pares de menor afinidad. Para aumentar la producción de anticuerpos en un organismo, se utilizan adyuvantes. Los adyuvantes son sustancias químicas que provocan una activación generalizada del sistema inmunológico y a menudo se mezclan con el antígeno antes de la inyección (Lipman *et al.*, 2005).

Los anticuerpos generados por este método se denominan anticuerpos policlonales porque se derivan de diferentes clones de células B y el suero resultante contiene numerosos anticuerpos diferentes que reaccionan al inmunógeno inyectado. Debido a que el suero obtenido de animales no solo contendrá anticuerpos contra el antígeno introducido artificialmente en el laboratorio, sino que también contendrá anticuerpos contra cualquier otro antígeno al que el animal haya estado expuesto durante su vida. Por esta razón, los sueros primero deben «purificarse» antes de usar los anticuerpos para ensayos de investigación o diagnóstico.

Además de ratones, conejos, ovejas y pollos, que son las especies más utilizadas para la producción de PABs, también se utilizan ratas, hámsteres, cobayos, cabras, camélidos como la llama o la alpaca, y equinos (Lipman *et al.*, 2005). Los isotipos de Ig, la organización de los genes de Ig, el mecanismo de diversificación y los sitios de órganos de diversificación de anticuerpos difieren entre los animales vertebrados.

Producción de anticuerpos monoclonales (MABs)

En 1975 Köhler G. y Milstein C. reportaron por primera vez la obtención de MABs específicos contra un inmunógeno determinado con características reproducibles y podían producirse de manera continua a partir de líneas celulares establecidas. A diferencia de los PABs, que se producen en animales vivos, los MABs se producen *in vitro* mediante técnicas de cultivos. El proceso tradicional de producción de MABs comienza con la generación de células productoras de MABs, denominadas hibridomas, mediante la fusión de células de mieloma con esplenocitos, células producidas en el bazo, productores de anticuerpos (células B). Los hibridomas son células somáticas inmortales que reúnen las propiedades de las células parentales que le dan origen: la producción de anticuerpos específicos (proviene de las

células B) y la capacidad de reproducirse indefinidamente (que la adquieren de las células de mieloma). Los MAb constituyen una clase de anticuerpos que tienen la propiedad de ser homogéneos y monoespecíficos contra un antígeno definido (Liu Justin, 2014).

DESARROLLO Y PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS POLICLONALES

En los últimos años, bioquímicos y licenciados en biotecnología del Instituto de Salud y Ambiente del Litoral de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (Universidad Nacional del litoral) hemos estado llevando a cabo la producción de anticuerpos utilizados tanto en la investigación básica como aplicada, así como también en diagnóstico clínico. La mayoría de los anticuerpos desarrollados en el Instituto son PAb dado que presentan especificidad hacia varios epítomos de la proteína de interés, son estables a los cambios de pH, el volumen de antisuero obtenido es lo suficientemente vasto como para realizar las determinaciones suficientes para varios estudios y funcionan muy bien en cualquier metodología. Sumado a ello, la producción se da a bajo costo y la complejidad de producción es relativamente baja si lo comparamos con MAb. En la tabla 6.1 y la figura 6.3 se detallan algunos ejemplos de los desarrollos llevados a cabo en nuestro Instituto.

Tabla 6.1 Anticuerpos policlonales generados en el Instituto de Salud y Ambiente del Litoral

Anticuerpo	Función de la proteína/blanco
Ki-67	Proteína nuclear que se expresa en células que se encuentran en proliferación (Gomez <i>et al.</i> , 2020). Marcador para la detección del cáncer de mama mediante inmunohistoquímica (Pan <i>et al.</i> , 2017).
Her2Neu	Glicoproteína con actividad tirosina quinasa en su dominio intracitosólico. Marcador para la detección del cáncer de mama mediante inmunohistoquímica (Wolf <i>et al.</i> , 2014).
Wnt7/5	Proteínas de señalización para diferentes procesos biológicos y del desarrollo (Vigazzi <i>et al.</i> , 2016).
Receptor de Estrógeno β	Proteína celular que es activada por la hormona denominada 17 β -estradiol o estrógeno (Varayoud <i>et al.</i> , 2016).
5 α -reductasa	Proteína con actividad enzimática, involucrada en el metabolismo de andrógenos y estrógenos (Rossetti <i>et al.</i> , 2019).

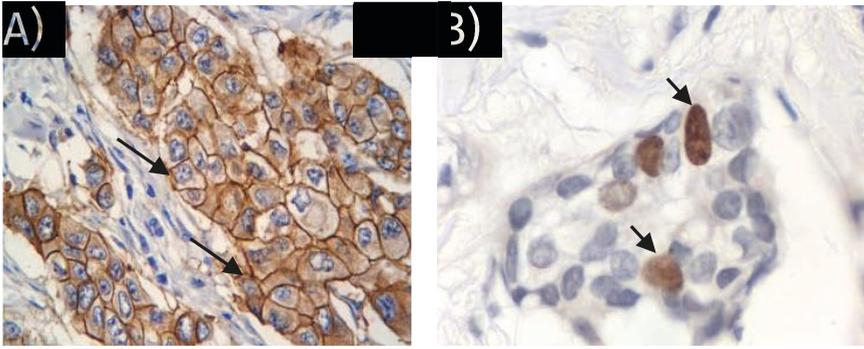


Figura 6.3. Inmunomarcación de A) Her2Neu en una muestra de carcinoma humano de mama score 3* (marcación de membrana) y B) Ki-67 en biopsia de mama (marcación nuclear). Fotomicrografías representativas de la expresión de Her2Neu y Ki-67 obtenidas a partir de ensayos contracolorados con hematoxilina de Mayer

CONCLUSIONES

Dada su especificidad, versatilidad y estabilidad, la utilización de anticuerpos en las diferentes áreas ha sido y sigue siendo una herramienta fundamental para el diagnóstico de numerosas enfermedades y el estudio de moléculas claves en diversos mecanismos celulares relacionados a procesos fisiológicos y patológicos. En este sentido, la biotecnología como tal ha aportado y continúa aportando dinámicamente los conocimientos tanto teóricos como prácticos necesarios, permitiendo un continuo avance en materia de salud, ciencia y tecnología. En los últimos años, el Instituto ha sumado la posibilidad de generar sus propios anticuerpos, lo que expandió ampliamente las posibilidades a nivel metodológico y ha permitido un crecimiento continuo en investigación, desarrollo y servicios a terceros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GOMEZ, A.L.; ALTAMIRANO, G.A.;...; KASS, LAURA (2020). Exposure to a Glyphosate-based Herbicide Alters the Expression of Key Regulators of Mammary Gland Development on Pre-pubertal Male Rats. *Toxicology*, (439), 142-477.
- GST FUSIÓN SYSTEM HANDBOOK. GE HEALTHCARE**
- HENDRIKSEN, C.F; LEENARS, M. (2005). Critical Steps in the Production of Polyclonal and Monoclonal Antibodies: Evaluation and Recommendations. *ILAR Journal*, (3)46, 269-279.
- LIPMAN, N.; JACKSON, L.;...; WEIS-GARCIA, F. (2005). Monoclonal Versus Polyclonal Antibodies: Distinguishing Characteristics, Applications, and Information Resources. *ILAR Journal*, (46), 258-268.
- LIU, J. (2014). The history of monoclonal antibody developmente Progress, remaining challenges and future innovations. *Annals of Medicine and Surgery*, (3), 113-116.
- MADDUR, M.; DIMITROV, J.;...; KAVERI, S. (2020). Natural Antibodies: from First-Line Defense Against Pathogens to Perpetual Immune Homeostasis. *Clinic Rev Allerg Immunol*, (58), 213-228.
- PAN, Y.; YUAN, Y.;...; WEI, Y. (2017). P53 and Ki-67 as prognostic markers in triple-negative breast cancer patients. *PLoS ONE*, 12(2), e0172324.
- ROSSETTI, M.F.; SCHUMACHER, R.;...; RAMOS, J.G. (2019). The impact of sensory and motor enrichment on the epigenetic control of steroidogenic-related genes in rat hippocampus. *Mol Cell Endocrinol*, 5(485), 44-53.
- VARAYOUD, J.; RAMOS, J.G.;...; LUQUE, E.H. (2008). Developmental exposure to Bisphenol a impairs the uterine response to ovarian steroids in the adult. *Endocrinology*, 149(11), 5848-5860.
- VIGEZZI, L.; RAMOS, J.G.;...; BOSQUIAZZO V.L (2016). A deregulated expression of estrogen-target genes is associated with an altered response to estradiol in aged rats perinatally exposed to bisphenol A. *Mol and Cell Endocrinol*, (426), 33-42.
- WOLF, A.C.; HAMMOND, M.E.;...; HAYES, D.F (2014). Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med*, (138), 241-256.

7 Producción de alimentos funcionales: una visión desde la biotecnología

DIEGO MERCANTI · EMILIA HICK · PATRICIA BURNS

INTRODUCCIÓN

El presente capítulo aborda el desarrollo de un alimento funcional, queso tipo Fior di Latte adicionado de microorganismos probióticos, realizado en el Instituto de Lactología Industrial (INLAIN) perteneciente a la Universidad Nacional del Litoral (UNL) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). El objetivo es describir el recorrido que realizamos los científicos, tecnólogos y microbiólogos, desde la idea-proyecto hasta el desarrollo del producto final donde nos enfrentamos con aciertos, desafíos y dudas.

La Sociedad Española de Biotecnología (SEBIOT) define a la biotecnología de los alimentos como el conjunto de técnicas o procesos que emplean organismos vivos o sustancias que provengan de ellos para producir o modificar un alimento, mejorar las plantas o animales de los que provienen los alimentos, o desarrollar microorganismos que intervengan en los procesos de elaboración de estos (<https://www.madrimasd.org/blogs/alimentacion/2007/04/25/64351>). Si bien la mayoría de las personas asocia este término con alimentos transgénicos, prácticamente en todos los alimentos que ingerimos, ha participado algún proceso biotecnológico. Desde hace miles de años, por ejemplo, el hombre utiliza microorganismos para la producción de alimentos fermentados como el vino, la cerveza, el pan con levadura, el queso. En estos procesos de fermentación, que podemos llamar de la «biotecnología tradicional» los microorganismos (bacterias y/o levaduras) transforman la materia prima en productos finales. La «biotecnología moderna», se diferencia de la tradicional en que emplea la ingeniería genética para obtener plantas, animales y microorganismos modificados genéticamente. La ventaja principal es que se puede introducir un gen de interés de una especie en otra distinta para conferirle una característica determinada.

El Instituto de Tecnólogos de Alimentos de los Estados Unidos (Institute of Food Technologists; IFT, 2004) define a los alimentos funcionales como aquellos que proporcionan un beneficio para la salud más allá de la nutrición básica. Un ejemplo de alimentos funcionales son los productos lácteos fermentados adicionados de microorganismos probióticos. En los últimos años, la mayor concientización de la sociedad sobre la influencia de la dieta en la salud ha incrementado la demanda de este tipo de alimentos. Este aumento en el consumo de alimentos funcionales, mínimamente procesados, más naturales

y beneficiosos para la salud estimula la innovación y el desarrollo de nuevos productos en la industria alimentaria mundial. En nuestro país, los alimentos funcionales más populares y disponibles en el mercado son yogures o leches fermentadas. En el año 2010, La Serenísima incorporó la cepa probiótica comercial *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG a su línea de quesos Port Salut (<https://www.perfil.com/noticias/economia/la-serenisima-incorpora-lactobacillus-gg-a-su-linea-de-quesos-blandos-20101005-0030.phtml>). No obstante, actualmente estos productos ya no se encuentran en el mercado local.

La definición aceptada actualmente de microorganismos probióticos fue establecida por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agricultural Organization; FAO) en el año 2001 y revisada por un panel de expertos de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics; ISAPP) en el año 2014. La definición consenso establece que los probióticos son «microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del consumidor» (Hill *et al.*, 2014). Los géneros de bacterias más estudiados y utilizados como probióticos son *Lactobacillus*, *Lactocaseibacillus* y *Bifidobacterium*.

Los efectos sobre la salud asociados al consumo de microorganismos probióticos están ampliamente demostrados y se han propuesto numerosos mecanismos para explicarlos, entre ellos: metabolización de carbohidratos complejos, mejora de los síntomas de intolerancia a la lactosa, defensa contra microorganismos patógenos (a través de la producción de compuestos antimicrobianos y/o la competencia por sitios de adhesión y nutrientes), modulación de la permeabilidad de la barrera intestinal y estimulación del sistema inmunológico, entre otros (Dongarrá *et al.*, 2013; Vinderola y Burns, 2021). Uno de los criterios que debe cumplir un alimento adicionado de un probiótico es que debe mantenerse la viabilidad del microorganismo en determinada concentración, hasta el final de la vida útil del producto. Por otro lado, si el alimento es destinado al consumo humano, su efecto sobre la salud debe demostrarse en al menos un estudio clínico en humanos (Hill *et al.*, 2014). En cuanto a la dosis de ingesta recomendada de probióticos en un alimento, varios autores proponen una concentración de 1×10^9 unidades formadoras de colonias (UFC), con lo cual el alimento debe contener entre 10^6 y 10^7 UFC/g o mL durante la vida útil, considerando una ingesta de 100 g o mL del producto (Burns *et al.*, 2015; Salminen *et al.*, 2016; Cuffia *et al.*, 2019a; Patrignani *et al.*, 2019).

Los productos lácteos fermentados son, en general, una matriz apta para la adición de probióticos; además, aportan nutrientes como calcio y proteínas y son aceptados por numerosos consumidores como parte de una dieta saludable.

DESARROLLO DE UN NUEVO ALIMENTO FUNCIONAL. QUESO TIPO *FIOR DI LATTE*

Fior di Latte es un queso blando de pasta hilada (tipo Mozzarella) con alto contenido de humedad, elaborado con leche bovina, mediante acidificación química de la cuajada o utilizando cultivos iniciadores de bacterias ácido-lácticas (BAL) como *Streptococcus thermophilus*. Es un queso blanco, sin corteza, con un ligero sabor a ácido láctico que se consume a los pocos días de su preparación (Cuffia *et al.*, 2017).

La tecnología de elaboración de los quesos de pasta hilada tiene una etapa de hilado que consiste en sumergir la cuajada ácida en agua caliente y luego someterla a un proceso de texturado (amasado y estiramiento) manual o mecánico, en donde la cuajada caliente se estira haciendo que las proteínas formen fibras. Esta etapa permite que el producto adquiera su textura característica; no obstante, constituye el principal desafío al momento de adicionar bacterias probióticas y mantener su viabilidad, debido a la utilización de altas temperaturas (Cuffia *et al.*, 2017, 2019a). En la figura 7.1 se observa el corte de la cuajada (A), hilado (B), comprobación del punto de hilado (C) y formación de los *bocconcini* (D) característicos del proceso de elaboración de los quesos *Fior di Latte*.



Figura 7.1. Etapas del proceso de elaboración del queso *Fior di Latte*

Teniendo en cuenta este marco teórico, como científicos tecnólogos y microbiólogos, nos realizamos algunas preguntas a la hora de pensar nuestra idea-proyecto:

¿Qué tipo de alimentos funcionales adicionados de microorganismos probióticos existen en el mercado? ¿Podemos desarrollar nuevos alimentos funcionales? Hoy en día, ¿cuál es la tendencia de los consumidores respecto a la alimentación? Un queso de pasta hilada tipo *bocconcini* (esferas) ¿sería bien aceptado por el consumidor para incorporarlo a su dieta, por ejemplo, en ensaladas frías? ¿Contamos en el laboratorio con el equipamiento y el personal capacitado para desarrollar el producto? ¿Podría ser un desarrollo de interés para la industria? ¿Existen reportes bibliográficos de este tipo de productos? ¿Se puede utilizar la tecnología tradicional de elaboración de este tipo de quesos de pasta hilada o necesitamos modificarla? ¿Qué microorganismos iniciadores y probióticos utilizamos, son compatibles? Teniendo en cuenta la tecnología de elaboración de los quesos de pasta hilada, ¿qué característica de interés debemos considerar a la hora de seleccionar el/los probiótico/s? ¿A qué problema nos podemos enfrentar durante la elaboración si el fermento es atacado por bacteriófagos? ¿Un bacteriófago podría atacar al microorganismo probiótico? Un alimento con más de un probiótico ¿tendrá un efecto sinérgico en cuanto a su potencial benéfico sobre la salud? ¿Qué modelo animal utilizamos para evaluar su funcionalidad *in vivo*? ¿Es un producto aceptable desde el punto de vista sensorial?

Como mencionamos anteriormente, en el mercado argentino predominan los yogures que contienen microorganismos probióticos, por lo cual, el desarrollo de un nuevo alimento funcional como es un queso, que pueda consumirse en platos fríos o ensaladas, podría ser bien recibido y aceptado por los consumidores y resultar de interés para las industrias lácteas que buscan innovar y aumentar la oferta de este tipo de alimentos en el mercado. Por otro lado, al momento de realizar la búsqueda bibliográfica, nos encontramos con que no existían desarrollos de este tipo, lo que avalaba aún más nuestra innovación del agregado de probióticos a quesos frescos de pasta hilada. Los trabajos publicados por Minervini *et al.* (2012), Ortakci *et al.* (2012) y Angiolillo *et al.* (2014) hacían referencia a la adición de bacterias probióticas microencapsuladas en alginatos o preadaptadas al calor, adicionadas a quesos de pasta hilada.

En el INLAIN contamos con el equipamiento necesario, incluida la planta piloto, y el personal capacitado para el desarrollo del producto. Entonces, el primer gran desafío que se nos planteó fue si se podía utilizar la tecnología tradicional de elaboración de estos quesos o si debíamos modificarla, es decir hacerla menos «agresiva» para que, al adicionar las bacterias probióticas, estas pudieran mantener su viabilidad en niveles elevados. Por otro lado, considerando que el principal desafío es la elevada temperatura del agua que se utiliza para el hilado de la cuajada, debíamos seleccionar cepas probióticas con elevada resistencia térmica.

En cuanto al ajuste y puesta a punto de la tecnología de elaboración, los parámetros seleccionados como óptimos fueron: acidificación de la cuajada (pH $5,20 \pm 0,05$), tiempo de hilado (10 min) temperatura del agua de hilado ($79,0 \pm 1,0$ °C), lo que implica una temperatura del interior de la cuajada de $60,0 \pm 1,0$ °C (menor a la habitual) (Cuffia *et al.*, 2017). Del elenco de cepas probióticas pertenecientes a la colección del INLAIN, se seleccionaron los dos lactobacilos comerciales que presentaron menor sensibilidad a la temperatura (*L. rhamnosus* GG y *Lactobacillus acidophilus* LA5), simulando las condiciones a las cuales estarían expuestas las cepas en la cuajada (Cuffia *et al.*, 2019 a y b). Como cultivo iniciador se utilizó la cepa comercial *S. thermophilus* ST1-14. Durante la elaboración de queso o yogur, el rol de los cultivos iniciadores de bacterias lácticas es el de acidificación, mediante producción de ácido láctico a partir de la lactosa de la leche. Esto contribuye a la coagulación, a la inhibición del desarrollo de bacterias patógenas o alterantes del alimento, a la vez que, en el caso de los quesos, aportan enzimas cuya actividad es importante para el desarrollo de aroma y sabor. Los fermentos adjuntos, en cambio, se emplean para obtener características adicionales, como ser la formación de ojos en los quesos, el mejoramiento de la textura del producto, la producción de aromas y sabores específicos durante la maduración de los quesos, o en el caso de las bacterias probióticas, un efecto beneficioso sobre la salud del consumidor. Tanto cultivos iniciadores como adjuntos pueden ser atacados por bacteriófagos (virus que infectan bacterias, también llamados fagos), conllevando grandes pérdidas económicas. Las infecciones por fagos de cultivos iniciadores se detectan fácilmente por problemas en la acidificación, pero en bacterias probióticas son mucho más difíciles de notar, ya que pueden no modificar parámetros observables y/o cuantificables durante la fermentación, y requieren en general un recuento diferencial de la/s cepa/s probiótica/s empleada/s (Briggiler Marcó y Mercanti, 2021). Para poder realizar dicho recuento diferencial, determinar la concentración de ambos microorganismos probióticos en el producto y diferenciarlo también del cultivo iniciador, se ensayaron varios medios de cultivo. Se seleccionó agar de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) + bilis bovina 0,15 % (p/v) (Cuffia *et al.*, 2019a) en el cual el cultivo iniciador no fue capaz de desarrollar y ambos probióticos se diferenciaron según las características morfológicas de las colonias. Hasta el momento, los probióticos seleccionados presentaban cierta resistencia térmica y se podían contar independientemente entre ellos y del cultivo iniciador. El próximo paso consistió en elaborar los quesos *Fior di Latte*. Se elaboraron 4 tipos de quesos: 1) Queso control (en el cual solo se utilizó el cultivo iniciador *S. thermophilus* ST1-14); 2) Queso GG (en el cual se adicionó como cultivo adjunto *L. rhamnosus* GG); 3) Queso L (en el cual se adicionó como cultivo adjunto *L. acidophilus* LA5) y 4) Queso GL (en el cual se adicionaron ambos cultivos adjuntos). El comportamiento del cultivo iniciador fue el esperado, indicando que no hubo ataque de bacteriófagos durante la elaboración de los quesos.

El ajuste en la tecnología de elaboración permitió mantener la viabilidad de los cultivos probióticos añadidos en concentraciones superiores a 10^8 UFC/g hasta el final de la vida útil de los quesos (15 días almacenados a 4 °C) (Cuffia *et al.*, 2019a), con lo cual se cumplía con los requerimientos del nivel de probióticos requeridos en un alimento (Angiolillo y *et al.*, 2014). Por otro lado, se logró que los quesos tuvieran las mismas características de textura que si fueran elaborados con la tecnología tradicional. De acuerdo con los recuentos de los cultivos adjuntos (probióticos), tampoco en este caso se observaron infecciones por fagos, aunque se debe tener en cuenta que, como los probióticos no se multiplican en la leche o la cuajada durante la elaboración, son mucho menos susceptibles de ser atacados por fagos (que en general requieren células en división activa para una infección eficiente). No obstante, dicha posibilidad nunca debe descartarse, especialmente si se usan cultivos que no sean de adición directa a tina y requieran, por lo tanto, pasos previos de propagación.

L. rhamnosus GG y *L. acidophilus* LA5 son dos cepas probióticas comerciales con efectos benéficos ampliamente demostrados (De Vrese *et al.*, 2011; Gorbach, Doron y Magro, 2016). No obstante, cuando se incorporan a un alimento, sus características funcionales pueden verse afectadas debido, por ejemplo, a ingredientes de la matriz alimentaria. Por esto, para un alimento adicionado de cepas probióticas es necesario demostrar la funcionalidad del producto final mediante ensayos *in vivo*. Como se mencionó anteriormente, si bien para un alimento de consumo humano su funcionalidad debe demostrarse en un estudio clínico en humanos, los primeros estudios *in vivo* suelen realizarse utilizando modelos animales.

En este sentido, para este trabajo se evaluó la funcionalidad de los quesos frescos de pasta hilada G, L y GL (almacenados a 4 °C durante 15 días) utilizando un modelo de ratones BALB/c. Los animales fueron alimentados durante 10 días consecutivos, por intubación intragástrica, con una suspensión de los quesos en agua (recibiendo una dosis de entre 7,6 y 7,9 log UFC/ratón). Se evaluó la seguridad de los quesos mediante translocación y la capacidad de modular el sistema inmunológico a través de la determinación de la concentración de IgA-s (inmunoglobulina A-secretoria, principal defensa de las mucosas) en fluido intestinal y de citoquinas pro-inflamatorias en intestino delgado y grueso (ELISA). Además, un grupo de animales recibió el queso control (c).

En todos los casos el ensayo de translocación resultó negativo, indicando que los quesos fueron seguros. Por otro lado, los animales alimentados con los quesos L y GL presentaron niveles significativamente más elevados de IgA-S, respecto a los quesos G y c y, el nivel de citoquinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α e IFN- γ) se redujo significativamente en los animales alimentados con los quesos probióticos respecto al grupo control (Cuffia *et al.*, 2019a).

Estos resultados demuestran que los quesos L, G y GL resultaron seguros y fueron capaces de modular la respuesta inmune en animales, incrementando

las defensas a nivel de mucosas y disminuyendo el perfil de citoquinas proinflamatorias. Los efectos dependieron de la cepa probiótica utilizada y en ninguno de los casos se observó un efecto sinérgico debido al agregado de ambos cultivos probióticos combinados, lo que confirmó que, el efecto benéfico de los microorganismos probióticos es cepa-dependiente y debe evaluarse cada caso particular.

En cuanto al análisis sensorial, cuando se elabora este tipo de alimentos, se espera que las cepas probióticas no alteren (no modifiquen de manera negativa) las características del alimento, o bien las mejoren. En este caso, todos los quesos fueron aceptados por el panel sensorial, si bien se encontró mayor sabor ácido en los quesos adicionados de los lactobacilos (Cuffia *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

El aporte realizado en este trabajo, desde la biotecnología de los alimentos, es considerado muy valioso ya que se logró el desarrollo exitoso de quesos frescos de pasta hilada adicionados de cepas probióticas demostrándose su funcionalidad *in vivo* y su aceptabilidad sensorial, lo cual podría ampliar la oferta de alimentos funcionales existentes en el mercado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGIOLILLO, L.; CONTE, A.;...; DEL NOBILE, M. (2014a). A new method to produce symbiotic Fiordilatte cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, (22), 180–187.
- ANGIOLILLO, L.; CONTE, A.;...; DEL NOBILE, M. (2014b). A new method to produce symbiotic Fiordilatte cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, (22), 180–187.
- BRIGGILER MARCÓ, M.; MERCANTI, D. (2021). Bacteriophages in dairy plants. En *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier, Academic Press. En prensa. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2021.02.015>
- BURNS, P.; PATRIGNANI, F.;...; LANCIOTTI, R. (2015). Potential of high-pressure homogenisation on probiotic Caciotta cheese quality and functionality. *Journal of Functional Foods*, (13), 126–136.
- CUFFIA, F.; GEORGE, G.;...; BURNS, P. (2017). Technological challenges in the production of a probiotic pasta filata soft cheese. *LWT – Food Science and Technology*, (81), 111–117.
- CUFFIA, F.; GEORGE, G.;...; BURNS, P. (2019a). In vivo study of the immunomodulatory capacity and the impact of probiotic strains on

- physicochemical and sensory characteristics: Case of pasta filata soft cheeses. *Food Research International*, (125), 108606.
- CUFFIA, F.; PAVÓN, Y.;...; BURNS, P.** (2019b). Effect of storage temperature on the chemical, microbiological and sensory characteristics of pasta filata soft cheese containing probiotic lactobacilli. *Food Science and Technology International*, 25(7), 588-596.
- DE VRESE, M.; KRISTEN, H.;...; SCHREZENMEIR, J.** (2011). Probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a fermented milk product with added fruit preparation reduce antibiotic associated diarrhea and *Helicobacter pylori* activity. *Journal of Dairy Research*, 78(4), 396-403.
- DONGARRÁ, M.L.; RIZZELLO, V.;...; FERLAZZO, G.** (2013). Mucosal immunology and probiotics. *Current Allergy and Asthma Reports*, 13(1), 19-26.
- GORBACH, S.; DORON, S.; MAGRO, F.** (2016). *Lactobacillus rhamnosus* GG. En *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology: Implications for Human Health, Prebiotics, Probiotics, and Dysbiosis* (pp. 79-89). Elsevier.
- HILL, C.; GUARNER, F.;...; SANDERS, M. E.** (2014). Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506-514.
- INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS** (2004). Expert Report: Functional Foods: Opportunities and Challenges. *Food Technology Magazine*, 58(12). <https://www.ift.org/news-and-publications/food-technology-magazine/issues/2004/december/features/functional-foods-opportunities-and-challenges>
- MINERVINI, F.; SIRAGUSA, S.;...; DE ANGELIS, M.** (2012). Manufacture of Fiordilatte cheese by incorporation of probiotic lactobacilli. *Journal of Dairy Science*, (95), 508-520.
- ORTAKCI, F.; BROADBENT, J.R.;...; MCMAHON, D.J.** (2012). Survival of microencapsulated probiotic *Lactobacillus paracasei* LBC-1e during manufacture of Mozzarella cheese and simulated gastric digestion. *Journal of Dairy Science*, (95), 6274-6281.
- PATRIGNANI, F.; SIROLI, L.;...; LANCIOTTI, R.** (2019). Use of *Lactobacillus crispatus* to produce a probiotic cheese as potential gender food for preventing gynaecological infections. *PLoS One*, 14(1), e0208906.
- SALMINEN, S.; KNEIFEL, W.; OUWEHAND, A.C.** (2016). *Probiotics: Application of probiotics in dairy products: Established and potential benefits*. Reference Module in Food Sciences.
- VINDEROLA G.; BURNS P.** (2021). The Biotics Family. En Gomes da Cruz, A.; Ranadheera, S.; Nazzaro, F. and Mortazavian, A. (Eds), *Probiotics and Prebiotics in Foods* (pp. 1-11). Elsevier.

8 Biotecnología en la agroindustria: innovación y valor agregado

FRANCISCO COLOMBATTI · ANDRÉS MURIEL

INTRODUCCIÓN

El eslabón de la cadena de valor de cereales y oleaginosas, conocido como la agroindustria, nunca se ha destacado por sus procesos biotecnológicos; a diferencia de lo que ocurre en la agricultura, el eslabón previo de dicha cadena. En este capítulo se pretende mostrar al lector cómo la biotecnología puede aportar soluciones y alternativas a procesos que históricamente se llevaron a cabo por medios químicos y/o físicos. Debido a la importancia económica, se describirán ejemplos de la industria de molienda de soja.

ARGENTINA Y SU RELACIÓN CON LA AGROINDUSTRIA

Durante 2020, a través de los puertos argentinos se exportaron 56,5 millones de toneladas (MM Tn) de cereales y oleaginosas. El 11,68 % de dicha exportación correspondió al poroto de soja, mientras que un 64 % del total correspondió al comercio del maíz (Terré, 2020). Sin embargo, se estima que en 2021 la producción de la oleaginosa será de 45 MM Tn, contra las 50 MM Tn del cereal (BCR, 2021). Entonces, si la diferencia en producción es de un 10 % ¿por qué se exporta 3 veces más maíz que soja? Existe una razón para tal diferencia entre producción y exportación: la industrialización del poroto de soja. La molienda de soja (o *crushing*) es el proceso fisicoquímico a través del cual se obtienen los siguientes derivados: Harina, *Pellet* de Cáscara y aceite de Soja. La molienda es el principal motivo por el cual en la campaña 2019/2020 se exportaron 6,6 MM Tn de poroto, mientras que se exportaron 31,6 MM Tn de derivados de la soja (25,3 MM Tn de Harina y *Pellets* de Soja, y 6 MM Tn de Aceite de Soja) (Sigaudó & Terré, 2021).

LA INDUSTRIA ACEITERA EN ARGENTINA

El Complejo Oleaginoso abarca desde la producción de granos hasta su industrialización (harinas y *Pellets* de soja, aceites crudos y refinados, subproductos procesados de la industria aceitera y biodiesel). En 2019, el Complejo Oleaginoso fue el sector que permitió el mayor ingreso de divisas al país, alcanzando los 18 867 millones de U\$S, un 29 % del total exportado. El complejo soja lidera los despachos y, en 2019, alcanzó una participación del 89,8 % del total, mientras que el 5,0 % correspondió al complejo girasol, 4,5 % al complejo maní, y 0,8 % al complejo olivícola (Ramseyer, 2020).

La producción del complejo soja presenta un perfil con fuerte orientación al mercado externo, siendo Argentina el país que lidera el ranking de países exportadores de harinas (Index Mundi, 2021a) y aceite de soja (Index Mundi, 2021b). El 80 % de esta producción se encuentra concentrado en la provincia de Santa Fe.

EL CRUSHING DE SOJA

Actualmente, el método predominante para el *crushing* de soja utiliza solventes para extraer el aceite de la oleaginosa. El proceso de extracción por solvente se puede describir en tres pasos: preparación, extracción y desolventización. Las principales diferencias en los procesos de extracción por solvente ocurren en la preparación. Por ejemplo, una diferencia frecuente entre los procesos adoptados por las diferentes empresas es la elección de descascarar o no en la etapa de preparación (Erickson, 1995).

Preparación: limpieza y despalillado. Los porotos de soja atraviesan un proceso de despalillado y descascarado previo al pasaje a través de quebradores y laminadores que destruyen las paredes celulares (Erickson, 1995).

Extracción: las láminas ingresan al extractor de aceite, en donde el aceite es extraído mediante el solvente. Este último, mezclado con el aceite, se envía hacia un destilador en el cual se separa el aceite del solvente, dando lugar al «aceite crudo» (Erickson, 1995).

Desolventización: las láminas agotadas en aceite —pero aún impregnadas en solvente— se envían a un desolventizador para quitar el solvente remanente y de ahí, a un secador para reducir la humedad. Finalmente, las láminas se transforman en harina de soja mediante la utilización de molinos martillo que generan partículas de menor granulometría (Erickson, 1995).

Partiendo de 1000 kg de poroto de soja, se obtienen: ≈700 kg de harina de soja, ≈200 kg de aceite de soja y ≈70 kg de *Pellet* de Cáscara de Soja (PeCaSo). Esta transformación es el corazón de la industria aceitera.

ECONOMÍA DEL *CRUSHING*

Tanto el poroto de soja como los productos obtenidos mediante la molienda son *commodities* y la tecnología de su producción es ampliamente conocida y replicable. Estos factores vuelven a la industria del *crushing* un espacio muy competitivo. Las firmas que se desenvuelven en mercados competitivos con tecnologías idénticas —o muy similares— no deberían esperar diferencias de ganancias entre las distintas compañías, a menos que alguna adopte una innovación. Esta simple predicción tiene implicancias en las expectativas sobre los precios relativos de estos *commodities*.

La ganancia de una empresa abocada al *crushing* de soja (o Margen Máximo Teórico, MMT) es, en términos generales:

$$MMT = P_{\text{Aceite}} * Q_{\text{Aceite}} + P_{\text{Harina}} * Q_{\text{Harina}} + P_{\text{PeCaSo}} * Q_{\text{PeCaSo}} - P_{\text{Poroto}} * Q_{\text{Poroto}}$$

Donde:

P_x = Precio del *commodity* X (poroto, harina, aceite o pecaso); mientras que
 Q_x = Cantidad del *commodity* X (poroto, harina, aceite o pecaso) (Mallory, 2017)

Reemplazando en la ecuación con los precios de dichos *commodities* a mayo de 2021:

$$MMT = 1400 \text{ U}\$/\text{Tn} * 0,2 \text{ Tn} + 425 \text{ U}\$/\text{Tn} * 0,7 \text{ Tn} + 145 \text{ U}\$/\text{Tn} * 0,07 \text{ Tn} - 566 \text{ U}\$/\text{Tn} * 1 \text{ Tn}$$

$$MMT = 21,65 \text{ U}\$$$

Si a los 21,65 U\$ se le restan los componentes faltantes de COGS (Cost Of Goods Solds) tales como salarios, energía, impuestos y expensas indirectas; se obtiene una idea del *Margen operativo* que puede ganarse por cada Tn de poroto procesado. Como la tecnología es similar para todos los jugadores, se espera que los márgenes sean similares.

En la ecuación, los términos están puestos en orden decreciente de valor por Tn. Sin embargo, el lector debe notar que el término que corresponde a la harina es el que más contribuye en la ecuación. Esto se debe a que el 70 % del poroto se convierte en harina luego de su procesamiento. La relevancia de este *commodity* nos obliga a continuar este análisis hablando sobre la biotecnología aplicada a la harina de soja.

BIOTECNOLOGÍA EN EL COMPLEJO OLEAGINOSO

La biotecnología en el complejo oleaginoso es una ciencia con fuerte incidencia en el primer eslabón de la cadena industrial, es decir, el campo. Es en el campo donde anualmente se evalúan y generan nuevas variedades de soja, resistentes a herbicidas, a eventos adversos como la sequía o estrés biótico (Colombatti, Gonzalez, Welchen, 2014, Lew *et al.*, 2020), variedades que son más productivas (Colombatti *et al.*, 2019, Lew *et al.*, 2020), o se utilizan bioestimulantes que promueven el desarrollo vegetal, o fertilizantes que tienen componentes obtenidos mediante procesos fermentativos (Gutterson, 2014). Sin embargo, es reciente el ingreso de la biotecnología en el segundo eslabón de la cadena de valor del Complejo Oleaginoso: la del *crushing*. Este capítulo pretende ilustrar al lector con dos procesos de biotecnología industrial desarrollados localmente.

BIOTECNOLOGÍA EN LA HARINA DE SOJA

Sobre la problemática de *Salmonella* en harina de soja

Durante el período 2020/2021 el mundo produjo 253 MM Tn de harina de soja o SBM (del inglés *Soybean Meal*) (USDA, 2021). La harina producida se utiliza como un ingrediente alimenticio esencial en dietas destinadas a porcicultura, avicultura acuicultura y ganadería. Al tratarse de un alimento, su comercialización exige la ausencia de *Salmonella*, *E. coli* y micotoxinas (van Eys, 2012). Los vectores de *Salmonella* más comunes son los roedores, las aves y los insectos. Controlar estas plagas debería ser suficiente para controlar *Salmonella*. Sin embargo, el tamaño de las instalaciones donde se realiza la molienda de soja y donde se almacena dicha harina, dificulta el control de parámetros microbiológicos a través del control de vectores (figura 8.1). Por este motivo la harina debe ser tratada antes del embarque con mezclas de ácidos orgánicos.

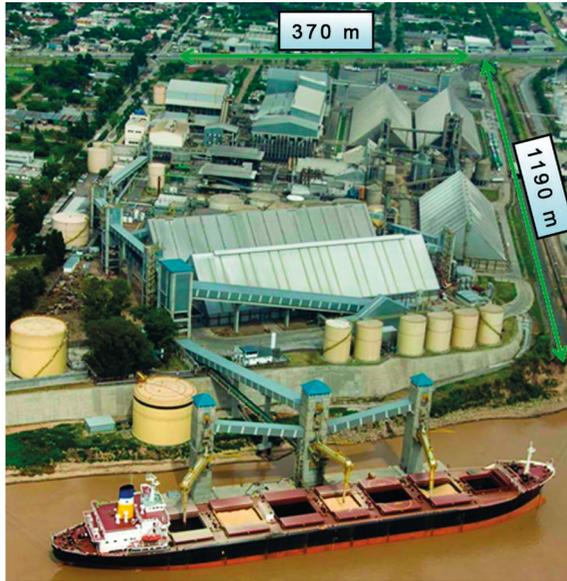


Figura 8.1. Dimensiones de una planta cuyo fin es el *crushing* de soja. Las grandes dimensiones dificultan el control de los vectores de *Salmonella*

El panorama incorpora un nivel más de complejidad, ya que las bacterias del género *Salmonella* han demostrado ser resilientes y con alta capacidad de adaptación a medios con baja actividad acuosa como la SBM, que contiene en promedio 8,5-12 % p/p (GMA, 2009). En este sentido, se ha demostrado que dependiendo del tipo de secado aplicado luego de la desolventización, la tasa de supervivencia de la bacteria puede ser mayor que la obtenida luego de un tratamiento térmico simple. Además, las bacterias del género *Salmonella* son capaces de sobrevivir largos períodos sobre superficies en estado de desecación (Finn *et al.*, 2013). Más importante aún, *Salmonella* es capaz de formar estructuras de supervivencia (comportamiento especialmente presente bajo estrés desecante) y entrar en estado de dormancia, cambiando su composición fisicoquímica. Es por estas razones, sumado a los grandes volúmenes de SBM producido anualmente que todas las bacterias del género son consideradas un problema con impacto e interés global.

La presencia de las mismas en el producto terminado se vincula con la manipulación inadecuada de la materia prima o del producto final o, a un diseño irregular del equipamiento utilizado en el proceso (Farakos, Frank, Schaffner, 2013).

Estrategias utilizadas para combatir la presencia de *Salmonella* en SBM

Existen diversas estrategias para la erradicación de *Salmonella* en complejos industriales. Sin embargo, todas incluyen tres pasos básicos (Scott *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2009a; Chen *et al.*, 2009b):

-Control de insumos, materias primas, equipos y procesos de producción: se analizan diferentes puntos a través del proceso productivo buscando sitios propicios para el crecimiento o alojamiento de *Salmonella*. Esta tarea puede llevar a un rediseño o reparación de equipos y maquinaria productiva.

-Tratamientos para la reducción o eliminación de *Salmonella* en producto final: pueden ser físicos y/o químicos. Ambos ofrecen buenos resultados para la eliminación de *Salmonella* tanto de los productos finales como de los intermediarios. Particularmente, los métodos químicos son muy prevalentes, ya que la mayoría de los alimentos y, específicamente la SBM, se ven afectados en su calidad si se los somete a un tratamiento térmico después del proceso productivo. Los químicos comúnmente utilizados para erradicar *Salmonella* de la SBM (ácidos grasos de cadena corta y sus sales conjugadas como tales como ácido: propiónico-propionato, acético-acetato, láctico-lactato y fórmico-formiato) son altamente corrosivos, tóxicos, irritantes, de difícil aplicación y costosos. Además, con este tipo de tratamientos, se han reportado numerosas alertas por presencia de *Salmonella*.

-Control poblacional post producción: seguimiento de posibles brotes de *Salmonella* en producto terminado y envasado.

La solución biotecnológica al problema de la *Salmonella*

Desde hace tres décadas se estudia el efecto de los microorganismos probióticos sobre diferentes matrices alimenticias (FAO/WHO, 2002; Soccol *et al.*, 2010). Distintos estudios han demostrado que los productos de fermentación —metabolitos— producidos por cepas probióticas son los responsables de la capacidad moduladora que estos microorganismos tienen sobre *Salmonella* (Tejero-Sarinena *et al.*, 2012).

En el año 2010, Molinos Agro SA (en ese entonces Molinos Río de la Plata SA) decide construir la primera planta de fermentación de cepas del género *Lactobacillus* con el fin de aprovechar sus productos fermentativos para el biocontrol de *Salmonella* spp en SBM (figura 8.2a). La planta en cuestión permite fermentar cinco cepas de *Lactobacillus* y una cepa de *Propionibacterium*, para luego generar una mezcla de fermentos que posteriormente se agrega a la SBM por aspersión directa en la línea de producción (Colombatti, Palacios, Ventrici, 2014).

El proceso fermentativo se inicia de forma tradicional, creciendo las bacterias desde viales a -80 °C a placas de petri, para luego obtener inóculos escalables hasta que el volumen generado sea suficiente para iniciar rápidamente

la fermentación en 1500 L (figura 8.2.c). La fermentación a escala industrial se realiza durante 36 h a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y cada cepa se fermenta por separado. Luego, estas cepas se enfrían, se mezclan en un tanque de stock (figura 8.2.b) y finalmente se dosifican sobre la SBM antes de su almacenamiento (figura 8.2.d) (Colombatti, Palacios, Ventrici, 2014).

La actividad anti-*Salmonella* del producto ha mostrado una eficiencia del 99,99 %. La dosificación de 200 mL de la mezcla probiótica sobre 1 Tn de SBM consigue prevenir brotes, eliminar y proteger a futuro contra *Salmonella*.

La eficiencia de la mezcla para eliminar la *Salmonella* se debe tanto al producto fermentado como al desarrollo de un sistema particular de dosificación. La SBM es asperjada con la mezcla de forma directa en una caída entre dos cintas transportadoras y es mezclado por roscas especiales que aseguran la distribución homogénea del producto en toda la SBM (figura 8.2.d y e). Solucionar la homogeneidad de aspersión en matrices de bajo contenido acuoso ha sido un desafío para la puesta a punto de la planta de fermentación (Colombatti, Palacios, Ventrici, 2014).

La elevada eficiencia de la mezcla propicia el requerimiento de infraestructuras pequeñas, debido a los pequeños volúmenes de mezcla anti-*Salmonella* que se emplean. Además, este producto tiene un costo de producción aceptable, teniendo en cuenta que el mercado objetivo es de *commodities*. Otra diferencia competitiva de este producto es la inocuidad tanto para el ser humano como para el medio ambiente y los equipos industriales. Su origen biológico basado en la utilización de bacterias GRAS (del inglés *Generally Recognized as Safe*, generalmente reconocidas como seguras) lo catalogan como un producto de bajo riesgo de manipulación, así como también de baja tasa de corrosión de los equipos metálicos.

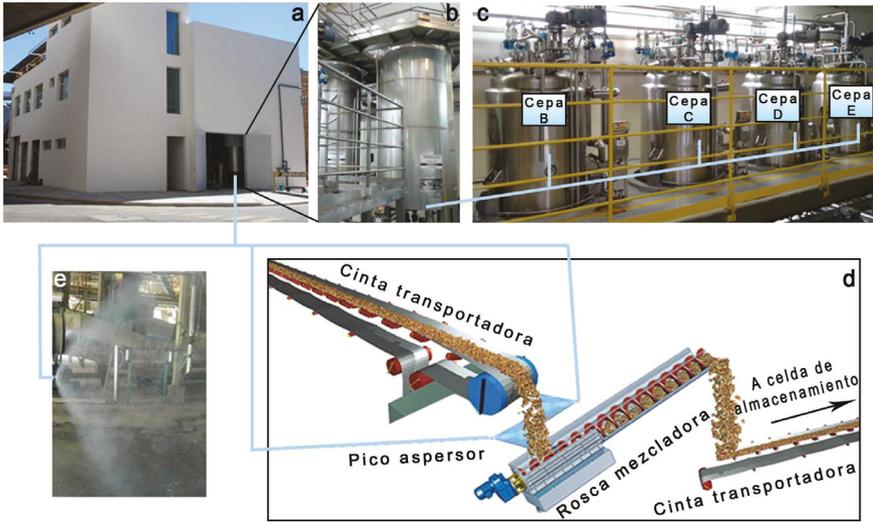


Figura 8.2. Esquema del sistema de aspersión de la mezcla anti-*Salmonella*. a) Planta de fermentación, vista exterior. b) Tanques de stock. c) Fermentadores de 1500 L. d) Circuito de aspersión de producto terminado. El recorrido de la tubería se indica en celeste. e) Pico aspersor en funcionamiento.

Se puede destacar una etapa de producción (a, b y c) y una etapa de aplicación (d y e). Las cepas fermentadas en c se mezclan en el tanque de stock mostrado en b y desde allí se aspersan sobre la harina de soja, que puede estar a cientos de metros de la planta de fermentación.

BIOTECNOLOGÍA EN EL ACEITE DE SOJA

Composición del aceite de soja

El aceite crudo de soja es la denominación de una mezcla compleja compuesta por triacilglicérols (componente mayoritario), diacilglicéridos (DAG), monoacilglicéridos (MAG), ácidos grasos libres (FFA, por sus siglas en inglés *Free Fatty Acid*), fosfolípidos (PL, del inglés *Phospholipids*), esteroides, tocoferoles, trazas metálicas y otros compuestos minoritarios (Hammond *et al.*, 2005). El tipo y la cantidad de impurezas dependen de las condiciones de crecimiento de las plantas, del manejo y almacenamiento de las semillas y de la tecnología utilizada para el *crushing* (molienda) del poroto de soja (Zhang, Koseoglu, Rhee, 1994). Como ocurre con la SBM, para poder ser comercializado, el aceite de soja debe cumplir con especificaciones de calidad. La principal impureza del aceite de soja está constituida por los PL (2-3 %) seguidos, en cantidades significativamente menores, por los FFA. El contenido de PL en

aceite se mide como «contenido de fósforo (P)» y se expresa en ppm. El aceite crudo tiene un contenido de P que oscila los 800-1200 ppm. El proceso que permite la obtención de aceite con menos de 200 ppm de P se denomina «desgomado» (Anderson, 2005). El aceite que se obtiene luego de quitar estos compuestos (PL y FFA) se conoce como «crudo desgomado». Dicho aceite contiene un nivel de P menor a 200 ppm y acidez menor al 1 %. Dentro de la categoría de aceites, el «crudo desgomado» de soja es el *commodity* (producto genérico) que más exporta la Argentina.

Desgomado de aceites

Los PL de soja se componen de fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilinositol (PI) y ácido fosfatídico (PA) (Galhardo & Dayton, 2012), según la proporción detallada en la tabla 8.1.

Tabla 8.1. Composición de PL del aceite de soja y capacidad de hidratación de los mismos

Fosfolípido (PL)	Distribución relativa de PL (%)	Tasa relativa de hidratación (%)
Fosfatidilcolina	47	100
Fosfatidilinositol	24	44
Fosfatidiletanolamina	20	16
Ácido fosfatídico	9	8,5

Los PL con grupos funcionales como colina e inositol tienen mayor afinidad por el agua y se los conoce como PL hidratables; son los responsables de elevadas pérdidas durante el refinamiento debido a sus propiedades emulsionantes. La fosfatidiletanolamina, el ácido fosfatídico y sus sales (Ca, Mg y Fe) tienen menor afinidad por el agua y son conocidos como fosfolípidos no hidratables (NHP, por sus siglas en inglés).

La hidratación de los PL da origen a la formación de una emulsión insoluble en la fase oleosa, conocida como «gomas». Las gommas deben ser removidas ya que tienden a descomponerse, alterando las propiedades del aceite. El desgomado es el paso donde se genera la mayor pérdida asociada al refinamiento del aceite. Existen diferentes métodos que permiten la remoción parcial o total de los PL del aceite vegetal: desgomado por agua, o desgomado enzimático.

Desgomado acuoso

El desgomado por agua (o por hidratación) es un proceso común para la eliminación de PL de aceites crudos con alto contenido de PL hidratables (Indira *et al.*, 2000). Para llevar a cabo este tratamiento, el aceite a 80 °C se mezcla con agua (la cantidad agregada se calcula en base a la concentración estimada de PL en el aceite) y se mantiene esta mezcla en agitación durante 20-60 minutos. La hidratación de los PL causa su aglomeración en la interfase agua-aceite formando las gomas, que pueden ser separadas por centrifugación. El desgomado acuoso es un tratamiento que permite que las gomas obtenidas se puedan transformar en productos tales como lecitinas, que se destinan a múltiples usos, tanto alimenticios como industriales (van Nieuwenhuyzen & Tomás, 2008). El P remanente en el aceite proviene, principalmente, de los fosfolípidos no hidratables. Las gomas se componen de PL, aceite y agua mientras que las de origen acuoso contienen hasta un 33 % de aceite atrapado que no puede separarse físicamente o ser recuperado de la emulsión, lo cual representa una pérdida significativa en el proceso.

Desgomado enzimático

Las mermas durante el desgomado acuoso (indicador de la eficiencia del desgomado) dependen fuertemente de la cantidad y calidad de los PL a remover del aceite. La única forma de reducir las pérdidas es modificando la naturaleza química de los PL. Esto se consigue mediante la acción de enzimas, en un proceso denominado desgomado enzimático (Dahlke, 1998; Yang *et al.*, 2006). El desgomado enzimático fue reportado por primera vez en 1990 bajo el nombre de Proceso EnzyMax® (Dahlke, 1998; Aalrust *et al.*, 1992), y fue posteriormente mejorado mediante el uso de fosfolipasas de diferentes orígenes. Sin embargo, no se desarrolló a escala industrial hasta el año 2010.

Las fosfolipasas actúan hidrolizando los fosfolípidos y generando productos más hidrofílicos, facilitando de esta forma la remoción de estos en la fase acuosa y disminuyendo la retención de aceite en las gomas (Yang *et al.*, 2006; Aalrust *et al.*, 1992). Las fosfolipasas pueden clasificarse, de acuerdo con la posición del sitio de hidrólisis de la molécula sobre el que actúan, como PLA1, PLA2, PLB, PLC o PLD. Las posiciones de los enlaces éster sobre los cuales actúan estas diferentes fosfolipasas se detallan en la figura 8.3.

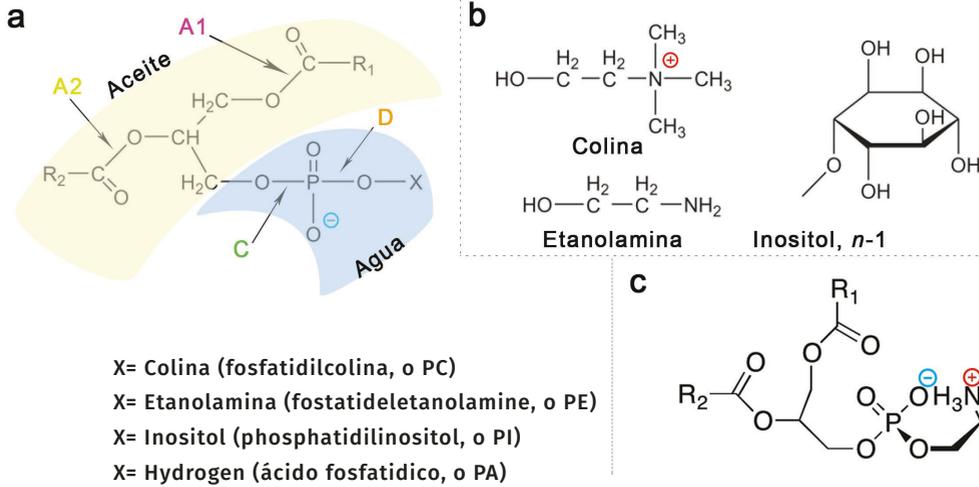


Figura 8.3. Estructura química de los PL y sitios de corte de distintas fosfolipasas

La reacción enzimática cambia la naturaleza del fosfolípido. Las PLAS catalizan la remoción de un ácido graso generando un lisofosfolípido más soluble en agua que su precursor; las PLCs catalizan la hidrólisis del grupo fosfato generando DAG soluble en el aceite y grupos fosfato hidrosolubles (Figura 8.4). Las PLCs se agrupan en distintas subfamilias según su especificidad de sustrato. Las PC-PLC (EC 3.1.4.3) catalizan la hidrólisis del grupo fosfato de la fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilserina (PS), mientras que las PI-PLC (EC 4.6.1.13) hidrolizan preferentemente el fosfatidilinositol (PI) (Borrelli & Trono, 2015). Hasta el momento solo cuatro enzimas se han utilizado y utilizan a nivel industrial: PLA2 (Rohalase® PL-xtra, EnzyMax®), PLA1 (Lecitase® Novo y Lecitase® Ultra de Novozymes) (Clausen, 2001, Patkar, Tsutsumi, Vind, 2002), PC/PE-PLC y PI/PLC (Purifine® de DSM) (Gramatikova *et al.*, 2009; Mueller *et al.*, 2009).

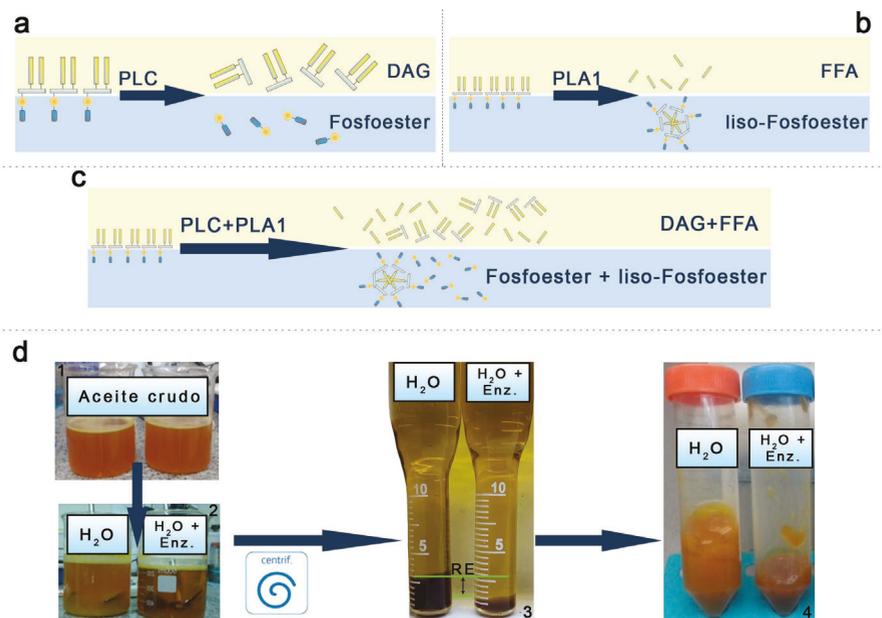


Figura 8.4. Resultados de la aplicación enzimática. a) Desgomado utilizando PLC. b) Desgomado utilizando PLA1. c) Desgomado utilizando un cóctel enzimático que contiene PLC+PLA1. d) Esquema del proceso de desgomado. En d1 se muestra el inicio del proceso con el aceite crudo, al cual se le adiciona agua y enzimas.

Luego de 2 h de reacción a 55 °C con agitación suave se obtiene el producto que se muestra en d2. Cuando se somete d2 a una centrifugación se obtiene d3, y en d4 se muestra la diferencia en cuanto a la cantidad de gomas obtenidas por los distintos desgomados. RE: Rendimiento Extra.

Molinos Agro: pioneros en incorporar el desgomado enzimático

En el año 2009, Molinos Río de la Plata (actualmente Molinos Agro) entró en un acuerdo con Verenum (posteriormente adquirida y administrada por DSM) para ser la primera empresa a nivel global en desarrollar el desgomado enzimático a escala industrial. Es así como a partir de 2010, el módulo de desgomado enzimático funciona en la planta de Molinos Agro ubicada en la ciudad de San Lorenzo. Con la incorporación de esta tecnología, Molinos incrementó la eficiencia de su proceso de extracción. La operación es relativamente sencilla. Comienza con la mezcla, mediante la utilización de mezcladores estáticos o dinámicos, del aceite de soja crudo con 23 % de agua conteniendo enzimas en una dosis de 200 ppm y 0-200 ppm de hidróxido

de sodio (cuyo fin es garantizar el pH óptimo de la reacción). Dicha mezcla se bombea hasta los maduradores, reactores cilíndricos (figura 8.5. a, b y c) capaces de conservar la temperatura de reacción (55 °C), cuyos agitadores operan a bajas revoluciones. El objetivo de la agitación lenta es generar una interfase aceiteagua en la cual las enzimas puedan actuar sobre los PL. Si la agitación es enérgica, se puede favorecer la formación de emulsiones estables que impidan la reacción enzimática derivando en el aumento de las mermas del proceso. Por otro lado, si la agitación es muy lenta el recambio molecular de la interfase podría limitar el flujo de PL y disminuir la reacción por limitación de sustrato.

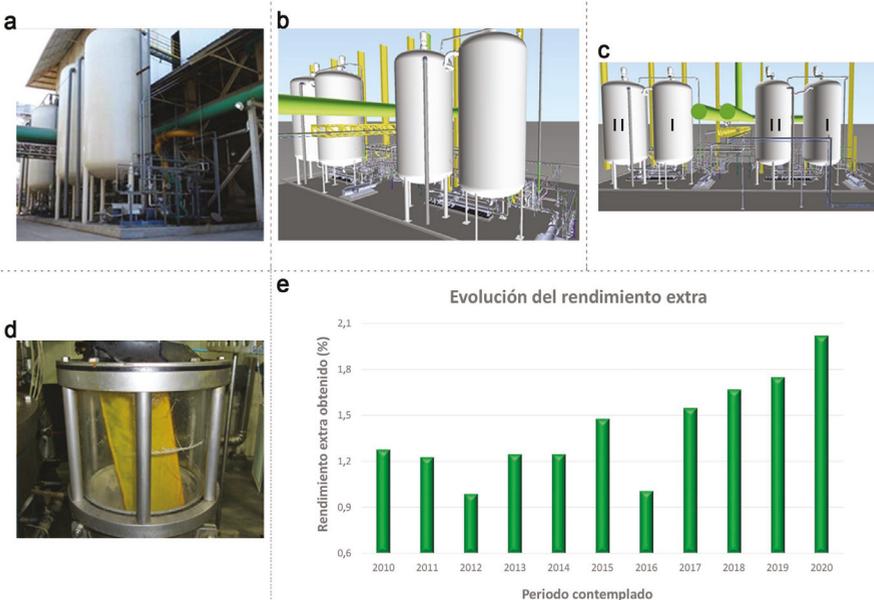


Figura 8.5. Módulo de desgomado enzimático y resultados obtenidos en la última década. a) Foto de los tanques maduradores instalados en Molinos. Para lograr 2 h de tiempo de reacción la empresa tuvo que dividir el caudal total de aceite en 2 líneas y colocar 2 reactores en cada línea: I y II. b y c) Renders del módulo de desgomado donde se destacan los maduradores I y II. d) Gomas obtenidas a la salida

de la centrífuga luego de 2 h de reacción en los maduradores. e) Resultados obtenidos en la última década. La evolución de la tecnología permitió pasar de rindes extras de 1,2 % hasta 2 % en el último año. En 2020 modificamos la línea de producción generando un proceso totalmente novedoso y aún más eficiente que el desgomado enzimático tradicional.

CONCLUSIONES

En una industria competitiva como la aceitera (y cualquier otra de *commodities*) generar diferenciales es crucial, no solo para distinguirse de los competidores sino también para mejorar la perspectiva a largo plazo. Dentro de Molinos, hemos logrado diferenciarnos de la competencia con nuestro tratamiento anti-*Salmonella*, y hemos generado valor mediante un incremento en la eficiencia. Ambos saltos los hemos realizado mediante la incorporación de procesos biotecnológicos al mundo industrial.

Para el caso del tratamiento de la *Salmonella* hemos aplicado un proceso fermentativo, y hasta 2020 se han tratado más de 22 MM Tn de SBM sin obtener un solo reclamo por presencia del patógeno. Mientras que para el tratamiento de los PL, hemos sido los primeros a nivel global en utilizar enzimas. Estos catalizadores naturales, altamente selectivos, nos han permitido aumentar los rendimientos del proceso de desgomado entre 1,2 y 2 %. Desde sus comienzos hasta enero de 2021 se estima que el aporte del desgomado enzimático ha sido de 130 000 Tn de aceite, traduciéndose, al final del día, en un importante beneficio económico. La agroindustria y la industria alimenticia deben ser consideradas por los licenciados en biotecnología como blancos, increíblemente, poco explorados para la innovación y la mejora continua.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AALRUST, E.; BEYER, W.;...; REINER, D. (1992). Enzymatic method for reducing the amount of phosphorous-containing components in vegetable and animal oils. Patente número EP 0513709 B1.
- ANDERSON, D. (2005). A Primer on Oils Processing Technology. En *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* (pp. 16–20). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- BCR (2021). Informe especial mensual sobre cultivos. Año X-Nº 137. https://www.bcr.com.ar/sites/default/files/2021-05/informe_especial_137_2021_12_05.pdf
- BORRELLI, G.M.; TRONO, D. (2015). Recombinant Lipases and Phospholipases and Their Use as Biocatalysts for Industrial Applications. *Int J Mol Sci*, (16), 20774–20840.
- CHEN, Y.; SCOTT, V.N.;...; BANKS, J. (2009a). Control of Salmonella in low-moisture foods II: Hygiene practices to minimize Salmonella contamination and growth. *Food Prot. Trends*, (29), 435–445.
- CHEN, Y.; SCOTT, V.N.;...; MEYER, J. (2009b). Control of Salmonella in low-moisture foods III: process validation and environmental monitoring. *Food Prot. Trends*, (29), 493–508.

- CLAUSEN, K.** (2001). Enzymatic oil-degumming by a novel microbial phospholipase. *Eur J Lipid Sci Tech*, (103), 333–340.
- COLOMBATTI, F.; GONZALEZ, D.H.; WELCHEN, E.** (2014). Plant mitochondria under pathogen attack: A sigh of relief or a last breath? *Mitochondrion*, (19), 238–244.
- COLOMBATTI, F.; MENCIA, R.;...; WELCHEN, E.** (2019). The mitochondrial oxidation resistance protein AtOXR2 increases plant biomass and tolerance to oxidative stress. *J Exp Bot*, (70), 3177–3195.
- DAHLKE, K.** (1998). An Enzymatic Process for the Physical Refining of Seed Oils. *Chem Eng Technol*, (21), 278–281.
- ERICKSON, D.R.** (1995). Chapter 5 Overview of Modern Soybean Processing and Links Between Processes. En Erickson, D. R. *Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization* (pp. 56–64). AOCs Press.
- SIGAUDO, D.; TERRÉ, E.** (2021). Las exportaciones de harina, aceite y poroto de soja alcanzarían el valor récord de U\$S 20,400 millones en 2020/2021. Bolsa de Comercio de Rosario. <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/las-19>
- TERRÉ, E.** (2020). Argentina embarcó granos por 56,5 millones de toneladas en el 2020, un 6 % menos que el año anterior. Bolsa de Comercio de Rosario. <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/argentina-17>
- COLOMBATTI, F.; PALACIOS, L.E.; VENTRICI, E.O.** (2014). A synergistic composition comprising a mix of bacteria of the genera lactobacillus and Propionibacterium freudenreichii ssp shermani and uses thereof. Patente Número EP3145331A1.
- FAO/WHO** (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. <http://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf>
- FARAKOS, S.M.; FRANK J.F.; SCHAFFNER, D.W.** (2013). Modeling the influence of temperature, water activity and water mobility on the persistence of Salmonella in low-moisture foods. *Int J Food Microbiol*, (166), 280–293.
- FINN, S.; CONDELL, O.;...; FANNING, S.** (2013). Mechanisms of survival, responses and sources of Salmonella in low-moisture environments. *Front Microbiol*, (4), 331.
- GALHARDO, F.; DAYTON, C.** (2012). Chapter 2 – Refining of triglyceride oils. Enzymatic degumming. En Dijkstra, A.J., *Edible oil processing*. American Oil Chemists' Society Ed. <http://lipidlibrary.aocs.org/Oils-Fats/content.cfm?ItemNumber=40324>
- GMA** (2009). Control of Salmonella in Low-Moisture Foods. <https://forms.consumerbrandsassociation.org/forms/store/ProductFormPublic/SalmonellaControlGuidance>

- GRAMATIKOVA, S.; HAZLEWOOD, G.;...; BROWN, R.C.** (2009). Phospholipases, nucleic acids encoding them and methods for making and using them. Patente número CA2777699 A1.
- GUTTERSON, N.** (2014). Chapter 11 - Commercialization of Bioagricultural Products. En Craig Shimasaki. *Biotechnology Entrepreneurship* (pp. 149-160). Academic Press. ISBN 9780124047303.
- HAMMOND, E.G.; JOHNSON, L.A.;...; WHITE, P.J.** (2005). Soybean Oil. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* (pp. 577-653). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- INDEX MUNDI** (2021a). Soybean Meal Exports by Country. <https://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=soybean-meal&graph=exports>
- INDEX MUNDI** (2021b). Soybean Oil Exports by Country. <https://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=soybean-oil&graph=exports>
- INDIRA, T.N.; HEMAVATHY, J.;...; BHATTACHARYA, S.** (2000). Water degumming of rice bran oil: a response surface approach. *J Food Eng*, (43), 83-90.
- LEW, T.T.S.; SAROJAM, R.;...; STRANO, M. S.** (2020). Species-independent analytical tools for next-generation agriculture. *Nat. Plants*, (6), 1408-1417. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-00808-7>
- MALLORY, M.** (2017). Chapter 17 The Soybean Crush. En *Price Analysis: A fundamental approach to the Study of Commodity Prices*. Bookdown.
- MUELLER, U.; PASCAL, G.;...; MEYLAND, M. I.** (2009). Phospholipase C expressed in *Pichia pastoris*. WHO Press, India.
- PATKAR, S.A.; TSUTSUMI, N.; VIND, J.** (2002). Method of generating diversity into lipolytic enzymes and lipolytic enzyme genes. Patente número WO2002066622 A2.
- RAMSEYER, F.** (2020). Las exportaciones de los complejos oleaginoso y cerealero representaron el 44 % los despachos argentinos en el año 2019. (Informativo semanal mercados). Bolsa de Comercio Rosario. <https://www.bcr.com.ar/es/print/pdf/node/78229>
- SCOTT, V.N.; CHEN, Y.;...; BANKS, J.** (2009). Control of Salmonella in low-moisture foods. I. Minimizing entry of Salmonella into a processing facility. *Food Prot. Trends*, (29), págs 342-353.
- SOCCOL, C.R.; VANDENBERGHE, L.P.DS.;...; THOMAZ-SOCCOL, V.** (2010). The Potential of Probiotics: A Review. *Food Technol. Biotechnol*, (48), 413-434.
- TEJERO-SARINENA, S.; BARLOW, J.;...; ROWLAND, I.** (2012). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: evidence for the effects of organic acids. *Anaerobe*, (18), 530-538.

- USD REPORT** (2021). Foreign agricultural service/USDA Global Market Analysis. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>
- VAN EYS, J.E.** (2012). *Manual of Quality Analyses for Soybean Products in the Feed Industry*. USSEC, Chesterfield, MO.
- VAN NIEUWENHUYZEN, W.; TOMÁS, M.C.** (2008). Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies. *Eur J Lipid Sci Tech*, (110), 472-486.
- YANG, J.G.; WANG, Y.H.;...; GUO, Y.** (2006). Degumming of vegetable oil by a new microbial lipase. *Food Technol Biotech*, (44), 101.
- ZHANG, F.; KOSEOGLU, S.S.; RHEE, K.C.** (1994). Effects of expander process on the phospholipids in soybean oil. *J Am Oil Chem Soc*, (71), 1145-1148.

9 Los procesos biológicos en Biotecnología ambiental

RAÚL NICOLÁS COMELLI

INTRODUCCIÓN

La Ley de Biotecnología de la Provincia de Santa Fe (Ley N° 13.490), en su art. 1° establece que la Biotecnología «utiliza organismos vivos, o partes de ellos, para la obtención de un bien o servicio útil para el hombre; transforma la naturaleza, debiendo lograr un fino equilibrio entre la ética y las necesidades socioeconómicas, en un marco de máxima bioseguridad en función de su potencial peligrosidad; y en este contexto, utiliza distintas técnicas que permiten el mejoramiento de procesos».

EL AMBIENTE, LOS ECOSISTEMAS Y LA IMPORTANCIA DE LA BIODIVERSIDAD MICROBIANA

El *ambiente* se define como el conjunto de factores y fenómenos externos a los seres vivos y que influyen sobre estos, incluyendo tanto factores abióticos (agua, luz, temperatura, etc.) como bióticos (otros seres vivos). Los *Recursos ambientales* son todos aquellos factores que son consumidos por un organismo (nutrientes inorgánicos, presas, sitios para nidación, etc.), mientras que las *Condiciones ambientales* son las características físico-químicas que determinan dónde pueden desarrollarse los organismos (temperatura, pH, salinidad, humedad, etc.). Los seres vivos establecen relaciones (flujos de materia y energía) con el ambiente y para un mejor estudio de las mismas se definen *Ecosistemas*, esto es, unidades de organización biológica constituidas por todos los seres vivos de un área determinada y el ambiente en el que viven.

La *Biodiversidad* podría definirse como la suma total de toda la vida en el planeta Tierra y es un atributo de un área y se refiere específicamente a la variedad entre organismos, comunidades y procesos biológicos, ya sean de origen natural o antrópicos (afectados por la acción del Hombre). La *biodiversidad microbiana* es un capital natural que mantiene los ecosistemas funcionales y productivos. El efecto más significativo de los microorganismos es su capacidad para reciclar los elementos primarios que componen todos los sistemas vivos (por ej. carbono, oxígeno y nitrógeno). La evidencia actual

indica que las comunidades, al igual que las poblaciones que las componen, son dinámicas y cambian continuamente a medida que cambian las condiciones ambientales. El ambiente ejerce *presión* sobre los organismos, presentando numerosos *desafíos* que los seres vivos deben superar para poder sobrevivir. La *eficiencia biológica* es una medida relativa de la capacidad de supervivencia y éxito reproductor de una especie. Un concepto íntimamente relacionado es el de *selección natural*, esto es, el éxito diferencial de los individuos de una población como resultado de su interacción con el ambiente. La *hipótesis de la perturbación intermedia* postula que las comunidades sometidas a perturbaciones ambientales de magnitud intermedia poseen la mayor diversidad de especies (por ej., selvas tropicales), mientras que las comunidades sometidas a perturbaciones bajas o muy intensas, generalmente tienen una biodiversidad más baja (por ej., suelos contaminados).

Uno de los mayores desafíos actuales es la conservación de la biodiversidad microbiana, y de los procesos biológicos involucrados, en los ecosistemas. En este sentido, el rol de la Biotecnología resulta clave en: 1) el estudio de los ecosistemas (para conservar, primero se debe conocer la identidad de las especies y las interrelaciones que se establecen); 2) la evaluación del impacto contaminante de las tecnologías actuales sobre el medio ambiente y buscar, de ser necesario, alternativas más amigables (sustitución de productos y/o procesos), y 3) la aplicación del conocimiento para restaurar los ambientes afectados por la acción del hombre.

REACTORES Y PROCESOS BIOLÓGICOS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

Un *Proceso Bio(tecno)lógico* podría definirse como la serie de etapas o actividades (operaciones) que se llevan a cabo para convertir diferentes compuestos (o materias primas) en diferentes productos. Estos procesos son conducidos por microorganismos seleccionados, líneas celulares establecidas o metabolitos producidos por ellos (por ej., enzimas), con el objetivo de: 1) degradar o eliminar compuestos tóxicos o contaminantes (por ej., en tecnologías de remediación ambiental o de tratamiento de efluentes); 2) producir metabolitos o compuestos de interés industrial, agrícola, alimenticio o farmacéutico (por ej., biocombustibles, enzimas, vitaminas y aminoácidos, ácidos orgánicos, polímeros biodegradables, etc.). Se conoce como *Reactor biológico* o *Biorreactor* a todo recipiente o dispositivo en el que ocurren las reacciones biológicas. En general, un biorreactor permite controlar, regular y modificar ciertas variables críticas que pueden afectar el crecimiento de los microorganismos o la actividad de los metabolitos que producen, entre ellas, el pH, la temperatura, la agitación y la concentración de oxígeno.

La tecnología / ingeniería de bioprocesos emplea cepas de microorganismos de interés con el objetivo de obtener: 1) una elevada cantidad celular (biomasa), cuando el producto de interés es el propio microorganismo (por ej., *starters* en la producción de alimentos); 2) para la producción óptima de *metabolitos* (productos del metabolismo de los microorganismos), como ser enzimas, hormonas, ácidos orgánicos, vitaminas, antioxidantes, etcétera. El desarrollo de las plataformas productivas (microorganismos o líneas celulares) involucra herramientas de biología molecular típicas de la Biotecnología, conocidas como Tecnologías del ADN recombinante, además del diseño de sistemas de biorreactores eficientes, considerando las cinéticas de crecimiento de los microorganismos, consumo de sustrato/s, generación de producto/s y posibles efectos inhibitorios.

Un *Bioproceso* podría dividirse en tres etapas. La primera, denominada habitualmente *upstream*, comprende la preparación, esterilización y/o acondicionamiento del material de partida (medio de cultivo o materia prima seleccionada) y proliferación de los microorganismos de interés (denominado *inóculo*). La segunda, el *bioproceso propiamente dicho*, ocurre habitualmente en el interior de un reactor biológico y en las condiciones estandarizadas para lograr la transformación deseada, esto es, la conversión de la/s materias/s prima/s en el producto de interés por acción de los microorganismos y/o sus metabolitos (por ej., enzimas hidrolíticas). La tercera, o *downstream*, incluye todas las operaciones que ocurren «corriente abajo» del reactor. Una vez agotado el sustrato original y lograda la concentración deseada del producto de interés, es necesario proceder a la separación y purificación de este, hasta obtener un producto de alta pureza, calidad y listo para ser envasado y comercializado. Estas operaciones son de naturaleza físicoquímica e incluyen centrifugación, cromatografía, diálisis, disrupción celular, precipitación, extracción líquido-líquido, adsorción, intercambio iónico y ultrafiltración, entre otras. La etapa de *bioseparación* de un producto biotecnológico incide de manera significativa en su calidad y en el costo global del proceso, por lo que debe seleccionarse en base al uso final del producto, estándares de calidad y la exigencia competitiva del mercado.

PROCESOS BIOLÓGICOS APLICADOS AL TRATAMIENTO DE EFLUENTES

En general, toda actividad humana genera residuos tanto sólidos como líquidos. Las corrientes de agua contaminada, conocidas como *aguas residuales (AR) o efluentes*, pueden provenir de casas particulares, instituciones o industrias, y deben ser tratadas previo a su ingreso al ambiente. Existen diferentes parámetros para evaluar la calidad de las AR: la demanda química

y bioquímica de oxígeno (DQO y DBO, respectivamente) son medidas del contenido de materia orgánica (MO); sólidos suspendidos totales (SST); sólidos sedimentables (SS); pH; temperatura; etc. Existen valores límites que deben cumplir estos parámetros, lo que depende de la legislación vigente en cada jurisdicción. Por esto, el tratamiento de las AR no solo es deseable, sino también necesario para su correcto vertido en los cursos receptores (*disposición* en el ambiente). Las AR *domésticas o municipales* (provenientes de zonas urbanas, oficinas, etc.) se caracterizan por un elevado contenido de SST y microorganismos potencialmente patógenos; mientras que las AR *industriales* suelen poseer un elevado contenido de MO y SST, además de otros compuestos tóxicos (metales pesados, solventes, pesticidas, etc.) según el sector industrial involucrado. En general, las AR suelen contener nutrientes (principalmente nitrógeno y fósforo) que pueden estimular excesivamente el crecimiento de plantas acuáticas en el cuerpo receptor (fenómeno conocido como *eutrofización*). Además, la descomposición de la MO presente en las AR puede generar olores nauseabundos y disminuir la concentración de oxígeno disuelto necesaria para el correcto desarrollo de la vida acuática.

La eliminación de los contaminantes en las AR se realiza en *Plantas de tratamiento de efluentes*, diseñadas en función de las características del líquido a tratar y de las necesidades de reducción de contaminantes. Estas plantas aplican diferentes operaciones y procesos unitarios, los que pueden clasificarse en: 1) *primarios*: emplean operaciones fisicoquímicas (tamizado, equalización, filtración, sedimentación y flotación) con el objetivo de separar partículas, regular pH, temperatura, color, olor y eliminar materia elementos que pudieran afectar etapas posteriores; 2) *secundarios*, los que involucran procesos biológicos y microorganismos, con el objetivo de eliminar la materia orgánica disuelta; y 3) *terciarios*, los que contemplan la desinfección (para eliminar posibles patógenos) y otros procesos que permitan encuadrar los parámetros a los límites de vertido.

El principio de funcionamiento de los procesos biológicos de tratamiento se basa en la capacidad de los microorganismos de consumir la materia orgánica disuelta en las AR, generando productos que escapan espontáneamente (por ej. gases), o que son fácilmente separables por procesos físicos como la filtración (por ej., más microorganismos o biomasa). Los procesos biológicos se clasifican en *aeróbicos* o *anaeróbicos*, según suceden en presencia o ausencia de oxígeno, respectivamente. Dentro de los procesos anaerobios, los *Reactores de manto de lodos de flujo ascendente* (UASB por sus siglas en inglés) son uno de los más utilizados a nivel mundial. Estos reactores consisten en recipientes cerrados, de sección circular o rectangular, donde las AR ingresan por la parte inferior y avanzan de forma ascendente por el volumen del reactor. A medida que las AR ascienden, entran en contacto con los microorganismos, que consumen la materia orgánica generando los gases que conforman el biogás (CH_4 , CO_2 , H_2 , etc.). Finalmente, en la parte

superior del reactor, un sistema de separación trifásico permite separar las AR tratadas de los microorganismos y del biogás generado. Estos reactores permiten tratar grandes volúmenes de efluente con alto contenido de materia orgánica. Por otra parte, el *Sistema de barros activados* (SBA) se destaca dentro de los procesos aerobios y permite un tratamiento muy eficiente de las AR, alcanzando los valores exigidos para su vertido. En este sistema, las AR entran en contacto con los microorganismos en presencia del oxígeno aportado mediante aireación forzada. Luego de atravesar el reactor, los microorganismos son separados de las AR por sedimentación y retornados al reactor para mantener su concentración. Con algunas modificaciones al SBA, incluyendo zonas anóxicas y/o anaerobias, es posible promover el crecimiento de microorganismos capaces de remover el nitrógeno y el fósforo contenido en las AR, los cuales son muy sensibles frente a los cambios de pH y concentración de oxígeno disuelto. Por último, existen otros sistemas de tratamiento ampliamente utilizados, denominados *lagunas de tratamiento*, las cuales pueden operar en forma anaerobia, aerobia, o una combinación de ambas (facultativas). Se clasifican según su forma, el caudal y tipo de efluente que reciben, y consisten en piletas que pueden llegar a ocupar hectáreas, donde se encuentran los microorganismos que van consumiendo la MO a medida que son atravesadas por las AR. En los UASB y los SBA es posible controlar las principales variables operativas (caudales, pH, concentraciones de microorganismos, de MO y de oxígeno disuelto, etc.), por lo que el rol del biotecnólogo se hace evidente: optimizar las condiciones para que los microorganismos consuman la materia orgánica en el menor tiempo posible y con el menor gasto de energía.

BIOREMEDIACIÓN DE AMBIENTES CONTAMINADOS

El desarrollo industrial, la urbanización y las prácticas agrícolas-ganaderas generan un importante efecto secundario sobre los ecosistemas que disminuye la calidad del aire, del agua y del suelo. Los *compuestos xenobióticos*, es decir, aquellos que no se encuentran naturalmente en los ecosistemas y son generados por las actividades antrópicas (relacionadas al Hombre), se acumulan en el ambiente afectando en forma real o potencial la salud de todos los sistemas vivos. Dentro de este grupo se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), bifenilos policlorados (PCBs), insecticidas y herbicidas, antibióticos, colorantes azoicos, combustibles, dioxinas, y metales pesados, entre los principales. Se denomina *xenobióticos emergentes* a aquellos que no se detectan en el ambiente en concentraciones significativas, pero cuya acumulación es creciente y en el futuro cercano puede superar las concentraciones reconocidas como umbral.

El peligro (actual o potencial) originado por la presencia de estos compuestos en el ambiente determina la necesidad de aplicar tecnologías para eliminarlos o convertirlos en compuestos con menor toxicidad. Su degradación es muy lenta debido a la ausencia de rutas metabólicas óptimas o específicas. Los sistemas microbianos, principalmente bacterias y hongos, tienen sistemas enzimáticos amplios y versátiles, lo que les permite metabolizar compuestos xenobióticos con diferente grado de eficiencia (relacionado con el tiempo de exposición al xenobiótico y la «presión de selección» que este ejerce sobre las poblaciones microbianas). La «evolución» puede acelerarse en el laboratorio y la biotecnología es una herramienta para el desarrollo de cepas con capacidad aumentada o generada *de novo* para la degradación de los xenobióticos.

Según define la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos, las *Tecnologías de Remediación* son todas aquellas operaciones unitarias o serie de operaciones unitarias que alteran la composición de una sustancia peligrosa o contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado. Se clasifican en base a tres principios:

- 1) la estrategia empleada para la remediación, pudiendo ser a) destrucción o modificación de la estructura química de los contaminantes; b) extracción o separación de los contaminantes aprovechando sus propiedades fisicoquímicas (volatilización, solubilidad, carga eléctrica, etc.); c) aislamiento o inmovilización del contaminante mediante el uso de métodos físicos o químicos;
- 2) el lugar donde se aplica el proceso, dado que los contaminantes pueden ser removidos directamente del sitio contaminado (procesos *in situ*) o requerir de operaciones de excavación, dragado o cualquier otro proceso antes de su tratamiento (procesos *ex situ*);
- 3) el tipo de tratamiento, pudiendo ser térmicos (emplean calor para incrementar la separación), fisicoquímicos (se basan en las propiedades de los contaminantes y/o del medio contaminado) o biológicos (bioremediación).

La *Bioremediación* incluye todas las operaciones basadas en Procesos Biológicos (microorganismos o sus productos metabólicos) que permiten la transformación parcial (obtención de formas menos tóxicas) o total (mineralización) de los compuestos xenobióticos. Estas tecnologías, al igual que las de tratamiento biológico de efluentes, emplean sistemas biológicos. Sin embargo, la diferencia clave entre ellas es el momento de aplicación o actuación: mientras la bioremediación se aplica para solucionar un problema ambiental establecido en un medio natural (previamente ha ocurrido un escape puntual o continuo de los contaminantes), el tratamiento de efluentes se aplica para eliminar los contaminantes después de ser generados y

antes de su disposición en el ambiente. Las Tecnologías de biorremediación *in situ* tienen como objetivo estimular y crear un ambiente favorable para el crecimiento microbiano a partir de los contaminantes, suministrando aire u oxígeno (bioventeo / bioburbujeo), nutrientes (bioestimulación), microorganismos (bioaumentación) o todos los anteriores. El conocimiento de las características fisicoquímicas, movilidad y persistencia de los compuestos xenobióticos en el ambiente, así como la existencia de rutas metabólicas capaces de degradarlos es esencial para seleccionar las tecnologías más apropiadas y/o adoptar medidas correctivas eficaces.

El escenario actual de biorremediación de compuestos xenobióticos es un campo de constante desarrollo, enfrentando numerosos desafíos, como ser:

- 1) las propiedades de los contaminantes;
- 2) su *disponibilidad* (depende de la solubilidad, estado de oxidación, adsorción a otros componentes, etc.);
- 3) la toxicidad (afecta la capacidad de los microorganismos para asimilarlo y/o metabolizarlo);
- 4) las características del medio contaminado (tipo de suelo, aguas superficiales o subterráneas, área contaminada);
- 5) las condiciones y recursos ambientales del sitio contaminado (humedad, temperatura, disponibilidad de nutrientes, oxígeno u otros aceptores de electrones, pH, etc.);
- 6) presencia en el sitio contaminado de comunidades microbianas (autóctonas o añadidos al sistema) con la maquinaria metabólica adecuada y velocidades de degradación compatibles con un proceso factible; y
- 7) competencia entre poblaciones microbianas.

BIOCOMBUSTIBLES, LA CLAVE PARA LA TRANSICIÓN ENERGÉTICA

Los *recursos energéticos no renovables* no se renuevan a un ritmo suficiente para una extracción económica sostenible en la escala de tiempo humano. En la actualidad, la principal fuente de energía son los combustibles fósiles (petróleo y carbón). Por otro lado, la *energía renovable* se deriva de procesos naturales que se reponen constantemente.

La *Bioenergía*, una forma de energía renovable, se obtiene a partir de la *biomasa*, esto es, el material orgánico obtenido de organismos vivos, incluyendo plantas, animales y sus subproductos y/o desechos (aserrín, paja, estiércol, bagazo, grasas, etc.). Los *Biocombustibles* son aquellos producidos a partir de biomasa, por ej., el biodiesel, los alcoholes (bioetanol, biometanol y biobutanol), el biogás (biometano), el gas de síntesis (syngas) y el biohidrógeno. Los biocombustibles se clasifican en grupos o *generaciones*:

a) de *primera generación* (1G), incluyen el biodiésel (obtenido a partir de aceite de girasol, soja o colza, entre otros) y el bioetanol, producto de la fermentación alcohólica mediada por levaduras a partir de caña de azúcar y maíz, principalmente. Dado que estas materias primas son fuentes de alimento, la dicotomía «alimentos *versus* combustibles» es un tema de amplio debate en la actualidad; b) de *segunda generación* (2G), se producen a partir de cultivos no destinados a la alimentación o de residuos no comestibles (aserrín, tallos, vainas, cascarillas, bagazo, y cáscaras, por ejemplo. Varios autores sostienen que estos combustibles permiten mayores ahorros en emisión de gases de efecto invernadero respecto a los 1G. Sin embargo, la tecnología aún no se encuentra madura debido a que la biomasa celulósica presenta una estructura química compleja y difícil de descomponer, por lo que demanda de desarrollos tecnológicos en todas las etapas del proceso (acondicionamiento del material, hidrólisis enzimática y desarrollo de cepas de levaduras con espectro aumentado de fuentes de carbono susceptibles de ser fermentadas); c) de *tercera generación* (3G), son aquellos que se producen principalmente a partir de plantas acuáticas y microalgas, aunque algunos autores también incluyen a variedades vegetales modificadas genéticamente y no destinadas a la alimentación (por ej., árboles reducidos en lignina o cereales con celulasas integradas e inducibles por estrés térmico) dentro de las materias primas. Estos combustibles resultan muy prometedores, aunque es imprescindible mejorar la productividad de los procesos para alcanzar una producción a gran escala que resulte competitiva y económicamente atractiva; d) de *cuarta generación* (4G), por el momento son prototipos o «pruebas de concepto» de procesos que se combinan con tecnologías de captación y almacenamiento de CO_2 , es decir, abordan el concepto de *bioenergía con almacenamiento de carbono*. La materia prima no solo se adapta para mejorar la eficiencia de proceso, sino que se diseña para captar más CO_2 durante su ciclo de vida.

Los biocombustibles representan alternativas sustentables a los combustibles fósiles porque producen CO_2 sin emisiones netas de carbono al ser quemados, es decir, no tienen una huella de carbono. Al ser quemado, el biocombustible libera CO_2 , el cual es absorbido inmediatamente por las plantas (la fuente de biomasa). Este balance hace que la biomasa no tenga un efecto neto en la concentración de carbono en la biósfera.

BIOPROCESOS PARA UNA AGRICULTURA AMIGABLE CON EL AMBIENTE

La *agricultura* es una de las actividades fundamentales para la vida del hombre y comprende, necesariamente, una transformación del ambiente natural. La agricultura moderna depende enormemente de la tecnología

y de la aplicación de productos químicos (por ej., fertilizantes, herbicidas, insecticidas, fungicidas, etc.), los que afectan notablemente la diversidad y calidad de los agro-ecosistemas, tiene impacto negativo y ocasionan contaminación persistente del ambiente. La *Tecnología Agroecológica* promueve la aplicación de procesos biológicos sustentables en los ecosistemas de producción agrícola, pecuaria y forestal, conservando los recursos naturales como el suelo, agua y biodiversidad microbiana. Uno de los principales conceptos es la sustitución de los insumos habituales por nuevos derivados de origen natural y biodegradables. Los *bioplaguicidas* se derivan típicamente de microorganismos (bacterias, hongos, protozoos o sus productos metabólicos) y pueden controlar variedades de plagas (insectos, hormigas, pulgones, etc.) y mostrar especificidad contra ellas. Incluso, ciertas malezas pueden ser controladas por algunos hongos; mientras que la incidencia de hongos fitopatógenos o que causan deterioro de alimentos se puede reducir o eliminar mediante la aplicación de microorganismos *biocontroladores* (bacterias y hongos principalmente). Por otra parte, los *biofertilizantes* están formulados a partir de microorganismos (bacterias nitrificantes, solubilizadoras de fosfato y potasio, hongos micorrízicos, etc.) capaces de aumentar la accesibilidad de los nutrientes por parte de las plantas. Estos microorganismos se conocen genéricamente como *promotores del crecimiento vegetal* (PGPR por sus siglas en inglés). Los productos biológicos formulados a base de microorganismos, sus metabolitos, extractos vegetales o derivados de éstos, que se utilizan para promover el crecimiento de los cultivos y controlar distintos tipos de plagas, se denominan, en forma genérica, *bioinsumos*.

BIOPLÁSTICOS Y BIOMINERÍA

La industria minera es altamente contaminante para el ambiente, requiere grandes cantidades de energía y agua, y a menudo se encuentra emplazada en zonas áridas y remotas, lo que dificulta aún más el control y mitigación de los impactos. En general, la minería incluye tanto la extracción de minerales como la de combustibles fósiles. La *Biominería* comprende una serie de procesos microbiológicos que pueden ser utilizados para la recuperación de metales a partir de los minerales. Esta alternativa, de menor impacto ambiental y que requiere menor infraestructura y recursos que las tecnologías tradicionales, puede ser utilizada con éxito para minerales de muy baja ley (bajo contenido en el metal). La biominería se realiza en dos pasos, llamados *biolixiviación* y *biooxidación*, en los cuales los microorganismos solubilizan los metales esencialmente a través de ataques oxidantes y/o ácidos. La primera se aplica comúnmente a metales básicos, mientras que la segunda a los concentrados y minerales de oro refractarios al sulfuro.

Los plásticos son materiales sintéticos obtenidos mediante reacciones de polimerización a partir de derivados de petróleo, tienen cualidades sumamente versátiles y alta resistencia a la degradación. Estos materiales son parte integral de nuestra vida moderna. Sin embargo, su acumulación en el medio ambiente es un grave problema sin solución. A pesar de abordar este problema a través de diferentes procesos (incineración, reciclaje o fotodegradación, por ej.), estas tecnologías no se consideran efectivas. Los *Bioplásticos* constituyen una familia completa de materiales con propiedades diferentes y aplicaciones específicas. Se dice que son materiales «biobasados» porque fueron elaborados a partir de biomasa y son 100 % biodegradables (son completamente degradados a agua y CO_2 en condiciones aeróbicas o a metano bajo condiciones anaeróbicas) e igual de resistentes y versátiles que los plásticos convencionales, por lo que son indicados como una alternativa para sustituirlos. Entre sus ventajas se encuentran el ahorro energético y la reducción de la huella de carbono en los procesos de producción, el empleo de materias primas renovables y la reducción de la acumulación de residuos no biodegradables en el ambiente, además de la inocuidad y capacidad de no alterar sabores o aromas de los alimentos. Entre los bioplásticos, los polihidroxialcanoatos (PHA) y los polímeros del ácido láctico, como el PLA (poly-lactic acid) y el PLGA (co-polimerizado con ácido glicólico) son los más prometedores. Estos últimos son compuestos de tipo poliéster y, gracias a su biocompatibilidad, están disponibles comercialmente para uso biomédico (en sistemas de liberación controlada de medicamentos, suturas quirúrgicas e implantes, entre otros.).

BIOSENSORES PARA EL DIAGNÓSTICO, CONTROL Y MONITOREO AMBIENTAL

Un *Biosensor* es un dispositivo integrado autónomo que utiliza un sistema biológico (microorganismos, enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos, etc.), un transductor (traduce la señal emitida por el sistema biológico) y un detector (óptico, piezoeléctrico, térmico o magnético), proporcionando información cualitativa o cuantitativa específica sobre un determinado analito. La detección de pequeñas cantidades de muestras biológicas, el requisito de daño mínimo sobre el sistema para estudios *in vivo*, la monitorización *in situ* de metabolitos y el aumento de la especificidad y sensibilidad (en el orden de nanogramos o picogramos por mililitro) son algunos de los principales desafíos en el desarrollo de tecnologías basadas en biosensores, así como la producción en masa de elementos de reconocimiento molecular con selectividad, afinidad y estabilidad mejoradas, técnicas de inmovilización, miniaturización, determinaciones en matrices complejas y una mejor digitalización

de la señal generada. Los biosensores aparecen como herramientas analíticas adecuadas y de respuesta rápida en programas de monitoreo ambiental, control de calidad de alimentos, agricultura, control de bioprocesos y diagnósticos médicos.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS A FUTURO

La *Biotecnología Ambiental* es un área en permanente desarrollo y consolidación, con un creciente interés social, en paralelo al incremento de la contaminación y la degradación del ambiente. La Biotecnología Ambiental puede renovar las posibilidades de prevención de la contaminación, tratamientos de residuos sólidos y aguas residuales, desarrollo de nuevos productos y procesos menos contaminantes o que empleen materias primas renovables y aplicación de tecnologías para la restauración de ambientes contaminados, asegurando la salud del medio ambiente a través del biomonitoreo y la aplicación de herramientas de biología molecular e ingeniería genética. En perspectiva, la Biotecnología ambiental tiene un gran potencial para contribuir a la prevención, detección y remediación de la contaminación ambiental, siendo un eslabón clave en el desarrollo sustentable de las actividades humanas actuales y futuras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GOTHANDAM, K.; RANJAN, S.;...; LICHTFOUSE, E.** (Eds.) (2020). *Environmental Biotechnology*. Vol. 1. Springer International Publishing.
- IVANOV, V.; HUNG, Y.** (2010). Vol. 10: Environmental Biotechnology. En *Handbook of Environmental Engineering*, (p. 975). Springer Science.
- JÖRDENING, H.; WINTER, J.** (2005). *Environmental Biotechnology: Concepts and Applications*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.
- SANGEETHA, J.** (Eds.) (2016). *Environmental Biotechnology: Biodegradation, Bioremediation, and Bioconversion of Xenobiotics for Sustainable Development*. Apple Academic Press.
- SINGH, R.** (Ed.) (2017). *Principles and Applications of Environmental Biotechnology for a Sustainable Future*. Springer.
- VALLERO, D.** (Ed.) (2015). *Environmental Biotechnology. A Biosystems Approach*. Academic Press.

10 ¿Agro-bio-qué? Plantas, campo, microorganismos y ciencia

JESICA RAINERI · JULIETA VIRGINIA CABELLO ·
CAROLINA ATTALLAH · MABEL CAMPI · DELFINA RE

INTRODUCCIÓN

Se estima que para el 2050 la población mundial de seres humanos alcanzará los 10 mil millones de habitantes (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO, 2017), lo que implica que es fundamental y urgente desarrollar nuevas tecnologías que permitan garantizar la *seguridad alimentaria*.¹ Si bien los progresos en productividad conseguidas con el mejoramiento tradicional y la ingeniería genética han permitido avanzar en esta dirección, se ha visto que el incremento en la producción de los cultivos está llegando a una meseta o incluso reduciéndose debido al cambio climático y a la limitación de superficie arable. Así, si los hábitos de consumo y desperdicio no cambian, las nuevas tecnologías tendrán el desafío de aumentar la producción de alimentos en un 25 % a un 100 %. Además, esta mejora en el rendimiento de los principales cultivos debe cuidar especialmente la sustentabilidad y reducir el impacto ambiental de las prácticas agrícolas y ganaderas (Springmann *et al.*, 2018).

Es por todo ello que la Agrobiotecnología tiene un peso muy importante en los tiempos actuales, y esperamos en este capítulo introducirlos en esta temática. En la figura 10.1 se resumen los temas que se abordarán.

¹ «La seguridad alimentaria existe cuando todas las personas tienen, en todo momento, acceso físico, social y económico a alimentos suficientes, inocuos y nutritivos que satisfacen sus necesidades energéticas diarias y preferencias alimentarias para llevar una vida activa y sana». Cumbre Mundial sobre la Alimentación 1996 (FAO, 2011)

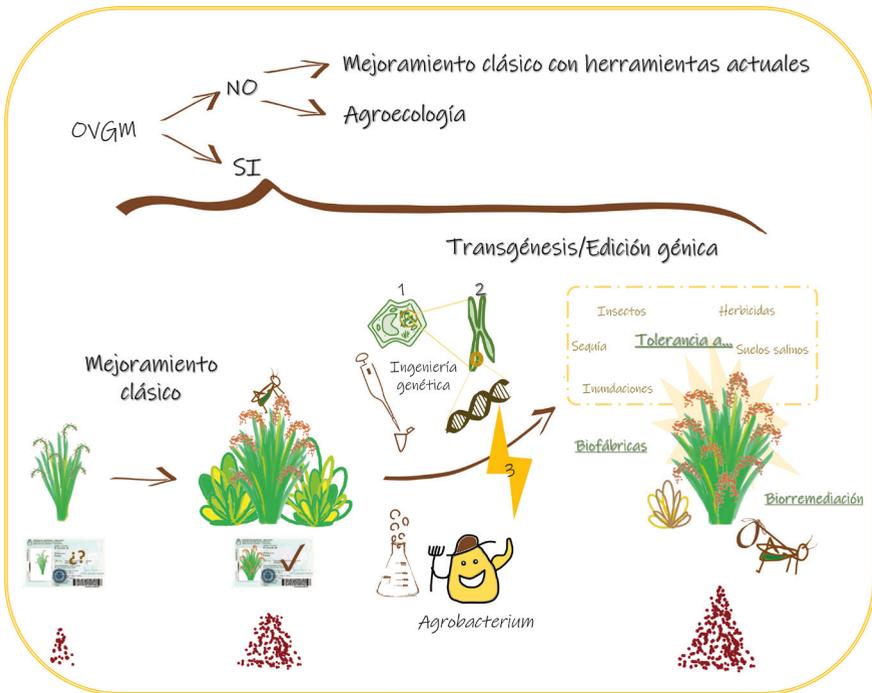


Figura 10.1. Resumen gráfico. 1: célula vegetal. 2: cromosoma (ubicado en el núcleo de la célula vegetal), 3: transformación vegetal mediada por *Agrobacterium*. OVG: Organismo Vegetal Genéticamente Modificado

SOBRE LOS INICIOS DEL MEJORAMIENTO VEGETAL

El ser humano habita la tierra desde hace cientos de miles de años. Las primeras civilizaciones sedentarias datan de 10 000 años atrás. Esto deja en evidencia que la agricultura es una práctica relativamente novedosa para la humanidad (Harlan, 1992). Al principio de la agricultura, se eligieron las semillas de las plantas con mayor rendimiento y características agronómicas más favorables y se cruzaron entre sí, seleccionando la nueva progenie en función de sus atributos. La mayoría de los cultivos que consumimos hoy en día provienen de esta selección artificial milenaria, que lleva el nombre de *mejoramiento clásico o tradicional*. Este método implica una selección de características en el genoma del organismo, basada solamente en su desempeño a campo, sin emplear técnicas de biología molecular. La *Revolución Verde* es un hito en la historia del mejoramiento vegetal que se

dio alrededor de 1960 (Østerberg *et al.*, 2017). El arroz y el trigo semienanos que presentan alto rendimiento son las variedades que, junto con la mecanización de la agricultura, dieron el puntapié inicial a esta revolución, que luego se extendió a otros cultivos. La mejora principal que se obtuvo con estas plantas es que, al tener menor altura, logran enviar más nutrientes a sus granos y pierden menos semillas por vuelco, aumentando así el rendimiento por hectárea (Evenson *et al.*, 2003; Hedden, 2003).

SOBRE LOS MARCADORES MOLECULARES

El advenimiento de nuevas tecnologías y el incremento del conocimiento sobre biología celular y molecular e ingeniería genética sirvieron como herramientas para desarrollar nuevas formas de mejoramiento vegetal.

Antes de avanzar, vamos a definir algunos conceptos importantes vinculados con estos nuevos conocimientos:

Los *genes* están ordenados en los *cromosomas*. El total de los cromosomas, o el total del ADN contenido en una célula, núcleo u organela es lo que llamamos *genoma*. Un *gen* es una secuencia de ADN necesaria y suficiente para dar origen a una proteína o enzima, necesarias para la funcionalidad de la *célula*. Los genes son las unidades heredables que les confieren ciertas características a los organismos, como el color de las flores, el largo del tallo, la forma de las semillas, entre muchas otras (Taiz, Zeiger, 2006). A su vez, los mismos son regulados, es decir que su expresión puede ser nula, poca o mucha, o incluso puede ser diferente en distintas células, momentos del día y/o determinadas situaciones.

Tanto la presencia de un gen como la regulación de su expresión pueden ser monitoreados y/o manipulados por el hombre gracias a la Biotecnología.

El *mejoramiento genético vegetal* es «el arte y la ciencia de cambiar genéticamente las plantas» (Sleper, Poehlman, 2006), es una rama de la agricultura que apunta a manipular la herencia genética de las plantas para desarrollar nuevas y mejores variedades para su uso por la sociedad.

Un *marcador molecular* es un segmento de ADN con una ubicación específica en un cromosoma (punto de referencia) cuya herencia puede seguirse en individuos de una población.

Desde sus comienzos, el objetivo del *mejoramiento genético vegetal* ha sido seleccionar y multiplicar individuos que presenten genes beneficiosos para su uso agrícola en función de las características que aportan dichos genes a las distintas especies vegetales. La *selección asistida* mediante el uso de *marcadores moleculares* hace que este proceso de caracterización y/o selección se vuelva más eficiente y específico (Levitus *et al.*, 2010).

SOBRE LA TRANSFORMACIÓN DE PLANTAS Y LAS PLANTAS TRANSGÉNICAS

Cuando hablamos de *plantas transgénicas* nos referimos a plantas que poseen uno o más genes foráneos en su genoma, introducidos de manera artificial. Este *ADN foráneo* puede provenir de cualquier organismo, ya sea de otras especies vegetales, bacterias, o incluso ser de origen sintético (Steinwand, Ronald, 2020). La transformación de plantas se utiliza tanto con fines biotecnológicos y también con fines meramente científicos o de conocimiento. Es decir, por un lado, se pueden transformar plantas de interés agronómico para que adquieran una característica deseada (investigación aplicada); y por otro lado, se pueden transformar plantas con fines de investigación, como por ejemplo para dilucidar la función de ciertos genes involucrados en diferentes procesos (investigación básica). Para hacer investigación básica generalmente se utilizan plantas modelo, que tienen la particularidad de ser relativamente fáciles de transformar y cultivar, y su genoma ya ha sido dilucidado, entre otras características. Podemos mencionar a *Arabidopsis thaliana* y *Medicago truncatula*, como modelos de plantas dicotiledóneas, y a *Oryza sativa* (arroz) como modelo de plantas monocotiledóneas.

Para llegar a obtener esas plantas transgénicas es necesario *transformarlas*. La transformación de las plantas consiste básicamente en la acción de introducir *ADN foráneo* en el genoma de una planta de interés. La metodología a utilizada variará según la planta que se desee transformar.

La transformación de plantas incluye dos pasos distintos y consecutivos. El primero es la introducción de *ADN* en las células vegetales y el segundo implica la integración de ese *ADN* en el genoma de la planta. Para la mayoría de los cultivos, la obtención de plantas transgénicas requiere de la habilidad de regenerar plantas desde tejidos transformados. Si bien este paso es considerado parte del proceso de transformación, la regeneración es, con frecuencia, el cuello de botella a la hora de obtener cultivos transgénicos de interés (Altpeter *et al.*, 2016).

Existen diferentes técnicas para transformar plantas. Las podemos dividir en técnicas de transferencia directa de *ADN* y en técnicas basadas en vectores biológicos. Las de transferencia directa a su vez pueden subdividirse en técnicas mecánicas, como la electroporación y la biobalística, y en técnicas químicas, como las que utilizan polietilenglicol (PEG) o calcio. Las técnicas basadas en vectores biológicos pueden utilizar la bacteria *Agrobacterium* (*A. tumefaciens* o *A. rhizogenes*) o pueden ser mediadas por virus vegetales. Dentro de este grupo, *Agrobacterium tumefaciens* merece ser mencionada especialmente, ya que es ampliamente utilizada por diversos protocolos de transformación para diferentes especies vegetales. Esta bacteria se caracteriza por ser un patógeno que usualmente ataca a las plantas y que de manera natural ha adquirido la capacidad de transferir su material genético dentro

de las células vegetales y de integrar ADN foráneo al genoma de la planta que infecta (Taiz, Zeiger, 2006). El hombre ha hecho uso de esta capacidad y utiliza a *Agrobacterium* como herramienta biotecnológica en la transformación de plantas. Es necesario destacar que las plantas de interés agronómico suelen ser recalcitrantes a ser transformadas, pero también son las más atractivas desde el punto de vista biotecnológico. En este capítulo hacemos hincapié en la transformación vegetal para lograr mejorar los cultivos, pero es importante destacar que las plantas transgénicas también se pueden utilizar como *biofábricas* de moléculas de alto valor agregado o para *fitorremediación* de suelos contaminados.

Nuevas tecnologías: CRISPR

Como mención especial, vamos a hacer foco en la *edición génica*. La diferencia más importante respecto de la transformación es que la edición génica nos permite dirigir la modificación que queremos realizar exactamente al lugar del genoma que nos interesa. A su vez, esta tecnología es muy versátil, permite la incorporación de uno o más genes, la eliminación de copias defectuosas de un gen o incluso la inserción o delección de fragmentos muy pequeños de ADN. Esta última opción es muy interesante a nivel biotecnológico ya que, según la metodología empleada, podría asemejarse a un proceso de evolución natural.

En 2012 se conoció un mecanismo por el cual las bacterias se defienden de las infecciones virales (Jinek *et al.*, 2012) y dos mujeres encontraron la manera de emplear la proteína que actúa en esa defensa (Cas9) en la edición del genoma de organismos eucariotas. Emmanuelle Charpentier y Jennifer Doudna han sido galardonadas con el Premio Nobel en Química 2020 por dicho descubrimiento, lo cual marca un hito ya que fue la primera vez que dos mujeres ganan un Premio Nobel en Ciencias. La tecnología tiene un nombre complejo que simplificamos llamándola por su sigla en inglés CRISPR–Cas9. La proteína Cas9 junto con la maquinaria de reparación celular realizan la edición génica y, luego de ello, se puede eliminar de la planta el gen de Cas9 (Jansson, 2018). Esta eliminación, junto a la opción mencionada más arriba, resultan muy importantes al momento de proyectar el uso tecnológico de plantas de interés agronómico, ya que se pueden obtener plantas editadas consideradas no-«organismos vegetales genéticamente modificados» (no-OVGM). En la actualidad, existen resultados exitosos del uso de esta tecnología en *Arabidopsis* o tabaco, y en cultivos de interés comercial como tomate, arroz, soja y maíz (Song *et al.*, 2016).

TRABAJANDO CON CULTIVOS

Como establecimos previamente, es muy importante desarrollar cultivos sustentables con mayor productividad y resiliencia a condiciones adversas. Hasta el momento, la gran mayoría de los eventos transgénicos aprobados confieren tolerancia a herbicidas y/o insectos (*International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications: ISAAA*), los llamados «transgénicos de primera generación». Uno de los casos más conocidos los constituye los cultivos tolerantes al herbicida glifosato, que generan una proteína vegetal modificada (EPSPS), haciendo a las plantas resistentes a los herbicidas. Otro de los cultivos más empleados en el campo son los Bt, que presentan resistencia al ataque de ciertos insectos porque producen proteínas insecticidas de la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Ej.: Cry, Vip; Roush, Shelton, 1997; Tabashnik, Carrière, 2017). Las proteínas Bt no causan daño sobre otros organismos, incluyendo al humano.

En nuestro país están aprobados para su cultivo maíz, soja y algodón transgénicos con diferentes combinaciones de tolerancia a herbicidas y resistencia a insectos, y casi la totalidad de la superficie sembrada con estas especies corresponde a cultivos genéticamente modificados (www.argenbio.org). También se encuentra aprobada la comercialización de papa transgénica resistente al virus Y de la papa (PVY), de alfalfa transgénica tolerante al glifosato y con disminución en el contenido de lignina, y de cártamo que produce quimosina bovina en su semilla. Asimismo, en Argentina se han aprobado eventos de soja y trigo HB4. En ambas especies se introdujo un factor de transcripción llamado HAHB4 que pertenece a girasol (*Helianthus annuus*) con el objetivo de que toleren condiciones de estrés abiótico. La aprobación de la comercialización de la soja y el trigo HB4 se encuentran condicionadas a la desregulación de los eventos en China y Brasil, respectivamente, que son los principales importadores de semillas. Estos cultivos representan las primeras tecnologías de OGM con mayor rendimiento y aumento de la tolerancia al estrés por sequía y calor. Es necesario destacar que la tecnología HB4, tiene sus inicios en una investigación básica de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral (FBCB-UNL) de Santa Fe, llevada adelante por docentes e investigadores del Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (UNL-CONICET). El trigo y la soja HB4 constituyen dos de los tres desarrollos nacionales que incluyen desde el descubrimiento de la función del gen de interés y el patentamiento de la tecnología por una institución pública, hasta la licencia y posterior colaboración público-privada con una empresa nacional para llevar a cabo las transformaciones de los diferentes cultivos, los ensayos a campo y los trámites regulatorios necesarios para obtener los productos comercializables.

OVGM SÍ... OVGM NO...

La controversia sobre el uso seguro de los transgénicos está en discusión desde los inicios de su implementación en Argentina en el año 1996. Sin embargo, hasta la fecha no hay estudios fehacientes que comprueben que las plantas transgénicas en sí sean peligrosas. Se ha detectado que una serie de especies que consumimos habitualmente de forma «segura» hace cientos de años, como la batata, la banana, el maní, los arándanos, entre otras, contienen en su genoma material genético proveniente de *Agrobacterium* (Matveeva, Otten, 2019), por lo que pueden ser considerados «OVGM naturales». Por otro lado, sí existen evidencias de la incidencia negativa del uso desproporcionado de herbicidas y pesticidas para la salud humana, y es importante que desde el Estado se establezcan las regulaciones necesarias para impedir su «mal uso» (Rueda–Ruzafa *et al.*, 2019).

Podemos destacar que la implementación de cultivos transgénicos ha permitido hasta el momento una reducción en las pérdidas de rendimiento y costos de producción, haciendo de esta manera que la actividad agropecuaria sea más sencilla, eficiente y provechosa para los agricultores (Brookes, Barfoot, 2016; Paul *et al.*, 2018). Gracias a los cultivos de primera generación se logró una disminución en el uso de pesticidas y se reemplazaron herbicidas más tóxicos por otros con menor impacto ambiental. El menor empleo de maquinaria, fruto de estas mejoras, redujo también la emisión de CO₂ (ISAAA, 2017). Asimismo, la seguridad de estos cultivos es evaluada exhaustivamente, dado que para su aprobación necesitan pasar por exámenes estrictos de inocuidad ambiental y alimentaria, lo que no ocurre para variedades mejoradas por el método tradicional (ISAAA, 2017). Sin embargo, la mala percepción pública de los transgénicos sumada al costo elevado que representa financiar el largo camino desde que la planta transgénica es obtenida en el laboratorio hasta que sale al mercado hacen necesarios el desarrollo de nuevas tecnologías que sean consideradas no OVGM.

SOBRE CÓMO HACER BIOTECNOLOGÍA VEGETAL SIN UTILIZAR PLANTAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE

Si bien existen numerosos estudios que demuestran los beneficios económicos y ambientales del uso seguro de transgénicos en los 20 años transcurridos desde su aprobación (Brookes, Barfoot, 2016; Klümper, Qaim, 2014; Smyth *et al.*, 2015), es importante desarrollar tecnologías alternativas que eviten la transgénesis o cuyo producto final no sea una planta transgénica ya que no se puede asegurar de manera fehaciente este impacto en la evolución de la especie.

Volver a los principios, pero con herramientas actuales

Existen varios ejemplos de cultivos donde se complementan los conocimientos actuales de bioquímica y biología molecular con los métodos de mejoramiento clásico. Uno de ellos es Beneforté®, el «super brócoli». Esta es una variedad más «sana» que la que encontramos en nuestras verdulerías porque tiene tres veces más cantidad de glucorafaninas, un componente normal del brócoli, que nos protege contra el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Traka, Mithen, 2009; Traka *et al.*, 2013). El «súper brócoli» es una nueva especie que se logró mediante la cruce de una *brassicacea* salvaje, con alto contenido de glucorafaninas, con el brócoli. La especie salvaje funcionó como fuente de nuevos genes que incrementan los niveles de estos compuestos en el brócoli que consumimos. Otro ejemplo lo encontramos en la frutilla que consumimos hoy en día, que es una cruce entre la *Fragaria chiloensis* que posee frutos grandes, pero no muy sabrosos, y la *Fragaria virginiana* con frutos pequeños, frágiles, pero muy sabrosos (Vergauwen, De Smet, 2019). El tomate es otra especie sobre la que se está trabajando en este sentido. Como es ampliamente cultivado, hay disponible un gran abanico de semillas y esta riqueza de variabilidad es una importante fuente de genes. Hay grupos de investigación que están estudiando maneras de modular el contenido de azúcares y carotenos y la arquitectura de las plantas de tomate para su mejora usando herramientas de genética moderna, pero sin emplear edición génica (Levin *et al.*, 2004).

La naturaleza a nuestro favor: agroecología

El objetivo de la agroecología es optimizar las interacciones entre las plantas, los animales, los seres humanos y el medio ambiente, teniendo en cuenta, al mismo tiempo, los aspectos sociales que deben abordarse para lograr un sistema alimentario justo y sostenible. Esta disciplina engloba al mejoramiento vegetal en el contexto de un ecosistema y como parte de una economía sustentable que garantice la seguridad alimentaria. La agroecología utiliza sistemas de cultivo mucho más complejos que los tradicionales, que involucran a varias especies y también requieren de un manejo más laborioso. Es por este motivo, que una de las críticas fundamentales a este tipo de sistemas es que no son fácilmente aplicables en grandes superficies (Tittonell, 2019).

El cambio climático que estamos atravesando genera episodios de estrés extremo y refuerza la necesidad de sistemas de producción que sean capaces de garantizar la seguridad alimentaria. Para lograr esta meta, la resiliencia es una característica fundamental en los cultivos (Altieri *et al.*, 2015). La agroecología se plantea entonces como una práctica agrícola que responde

a esta demanda. La biodiversidad que este modelo propone utilizar mejora la función del ecosistema porque componentes que parecen redundantes frente a condiciones adversas se diferencian y amortiguan los cambios medioambientales (Lin, 2011; Renard, Tilman, 2019). En nuestro país la agroecología es una disciplina en desarrollo. La Universidad Nacional de Río Negro es el único lugar donde se dicta la carrera Licenciatura en Agroecología. También hay instituciones y agrupaciones que dictan cursos como el Movimiento Campesino de Santiago del Estero (MOCASE), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y proyectos como el de la Chacra Experimental Integrada Barrow (INTA) que evalúan la utilización de la agroecología en cultivos extensivos.

Si bien hasta el momento no se incluyen cultivos transgénicos en las prácticas agroecológicas, es interesante revisar con más detalle los motivos de este quiebre y lograr un diálogo que permita una sinergia entre estas disciplinas.

CONSIDERACIONES FINALES

Como hemos visto a lo largo de este capítulo, el mejoramiento vegetal es una herramienta fundamental para garantizar la disponibilidad de los alimentos, ya que las plantas constituyen el primer eslabón de la cadena alimentaria. La necesidad de producir más comida para satisfacer la demanda de una población cada vez mayor es indiscutible y la Agrobiotecnología es una herramienta indispensable para este fin. A lo largo del tiempo hemos adaptado los cultivos para que produzcan más alimentos, siendo esta última la variable más importante. La necesidad actual incluye que la producción agrícola sea además sustentable y no dañe los ecosistemas. Los agrobiotecnólogos poseen la capacidad y los conocimientos para buscar nuevas formas de lograr este objetivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTIERI, M.A.; NICHOLLS, C.I.;...; LANA, M.A.** (2015). Agroecology and the Design of Climate Change–Resilient Farming Systems. *Agronomy for sustainable development*, (35), 869–890.
- ALTPETER, F.; SPRINGER, N.M.;...; KAUSCH, A.P.** (2016). Advancing Crop Transformation in the Era of Genome Editing. *The Plant Cell*, (28), 1510–1520.
- BROOKES, G.; BARFOOT, P.** (2016). Global Income and Production Impacts of Using Gm Crop Technology 1996–2014. *GM crops & food*, (7), 38–77.
- CHAN, L.R.; GONZALEZ, D.H.** (2015). *Modified Helianthus Annuus Transcription Factor Improves Yield*. U.S. Patent No. 9,035,132. U.S.
- EVENSON, R.E.; DOUGLAS G.** (2003). Assessing the Impact of the Green Revolution, 1960 to 2000. *Science*, (300), 758–762.
- HARLAN, J.R.** (1992). *Crops and Man*. American Society of Agronomy.
- HEDDEN, P.** (2003). The Genes of the Green Revolution. *TRENDS in Genetics*, (19), 5–9.
- JANSSON, S.** (2018). Gene-Edited Plants on the Plate: The «Crispr Cabbage Story». *Physiologia Plantarum*, (164), 396–405.
- JINEK, M.; KRZYSZTOF C.;...; CHARPENTIER, E.** (2012). A Programmable Dual–Rna–Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science*, (337), 816–821.
- KLÜMPER, W.; MATIN, Q.** (2014). A Meta–Analysis of the Impacts of Genetically Modified Crops. *PLoS one*, (9), e111629.
- LEVIN, I.; AVRAHAM, L.;...; SCHAFFER, A.A.** (2004). Non Gmo Fruit Factories: Strategies for Modulating Metabolic Pathways in the Tomato Fruit. *Industrial Crops and Products*, (20), 29–36.
- LEVITUS, G.; ECHENIQUE, V.;...; MROGINSKI, L.** (2010). *Biotechnología Y Mejoramiento Vegetal II*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina.
- LIN, B.B.** (2011). Resilience in Agriculture through Crop Diversification: Adaptive Management for Environmental Change. *BioScience*, (61), 183–193.
- MATVEEVA, T.V.; OTTEN, L.** (2019). Widespread Occurrence of Natural Genetic Transformation of Plants by Agrobacterium. *Plant molecular biology*, (101), 415–437.
- ØSTERBERG, J.T.; WEN, X.;...; SANDØE, P.** (2017). Accelerating the Domestication of New Crops: Feasibility and Approaches. *Trends in plant science*, (22), 373–384.
- PAUL, M.J.; NUCCIO, M.L.; BASU, S.S.** (2018). Are Gm Crops for Yield and Resilience Possible? *Trends in plant science*, (23), 10–16.

- RENARD, D.; TILMAN, D.** (2019). National Food Production Stabilized by Crop Diversity. *Nature*, (571), 257-260.
- ROUSH, R.T.; SHELTON, A.M.** (1997). Assessing the Odds: The Emergence of Resistance to Bt Transgenic Plants. *Nature Biotechnology*, (15), 816-817.
- RUEDA-RUZAFÁ, L.; CRUZ, F.;...; CARDONA, D.** (2019). Gut Microbiota and Neurological Effects of Glyphosate. *Neurotoxicology*, (75), 1-8.
- SLEPER, D. A.; POEHLMAN, J.M.** (2006). Breeding Field Crops. *Blackwell publishing*.
- SMYTH, S.J.; KERR, W.A.; PHILLIPS, P.W.B.** (2015). Global Economic, Environmental and Health Benefits from Gm Crop Adoption. *Global Food Security*, (7), 24-29.
- SONG, G.; MEILING, J.;...; LONG, M.** (2016). CRISPR-Cas9: A Powerful Tool for Crop Genome Editing. *The crop journal*, (4), 75-82.
- SPRINGMANN, M.; CLARK, M.;...; CARLSON, K.M.** (2018). Options for Keeping the Food System within Environmental Limits. *Nature*, (562), 519-525.
- STEINWAND, M.A.; RONALD, P.C.** (2020). Crop Biotechnology and the Future of Food. *Nature Food*, (1), 273-283.
- TABASHNIK, B.E.; CARRIÈRE, Y.** (2017). Surge in Insect Resistance to Transgenic Crops and Prospects for Sustainability. *Nature Biotechnology*, (35), 926.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.** (2006). Fisiología Vegetal. Universitat Jaume I.
- TITTONELL, P.** (2019). Las Transiciones Agroecológicas: Múltiples Escalas, Niveles Y Desafíos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, (51), 231-246.
- TRAKA, M.H.; SHIKHA, S.;...; CONSTANT, H.** (2013). Genetic Regulation of Glucoraphanin Accumulation in Beneforté® Broccoli. *New Phytologist*, (198), 1085-1095.
- TRAKA, M.; MITHEN, R.** (2009). Glucosinolates, Isothiocyanates and Human Health. *Phytochemistry reviews*, (8), 269-282.
- VERGAUWEN, D. Y DE SMET, I.** (2019). The Strawberry Tales: Size Matters. *Trends in plant science*, (24), 1-3.

11 Bioinformática e Inteligencia Artificial

MATÍAS GERARD

INTRODUCCIÓN

Bioinformática e Inteligencia Artificial son disciplinas que han estado acompañadas de grandes avances, principalmente en la última década. Sin embargo, es poco sabido que sus orígenes se remontan a mediados del siglo xx. Por este motivo, se propone hacer un breve recorrido por la historia, para conocer cómo se gestaron estas disciplinas y cómo evolucionaron hasta la actualidad. Repasaremos algunos de los hechos más relevantes, y se describirán algunos desarrollos en los que Inteligencia Artificial y Bioinformática han convergido para dar respuestas a problemas reales.

BIOINFORMÁTICA

Las computadoras y el software especializado se han vuelto una pieza esencial del trabajo diario en biología. Esto es evidente dado que todos los proyectos de investigación requieren, en alguna medida, del uso de computadoras. Por esto es que resulta fácil pensar que la bioinformática surgió recientemente, para ayudar al análisis de los grandes volúmenes de datos generados en la actualidad. Sin embargo, sus inicios se ubican a mediados del siglo xx, cuando las computadoras personales (PCs, por sus siglas en inglés) eran todavía una hipótesis, y el ADN aún no había sido secuenciado. Para ubicarnos en esta historia, podemos mencionar que Hershey y Chase (Hershey y Chase, 1952) probaron que la información genética está codificada en el ADN en 1952, y Watson, Crick y Franklin (Watson y Crick, 1953) descubrieron su estructura de doble hélice un año después. Además, debieron pasar 13 años para descifrar el código genético (Nirenberg y Leder, 1964), y otros 25 años para que el primer método de secuenciación estuviera disponible (Sanger y Nicklen, 1977). Todo esto podemos verlo reflejado en la línea temporal presentada en figura 11.1, donde se resaltan algunos hechos importantes para la historia de la bioinformática, junto a hechos que marcaron la evolución de la inteligencia artificial (que analizaremos más adelante). Como puede verse, dado que son muchos los acontecimientos involucrados en el nacimiento y evolución de la bioinformática, dividiremos su historia en cuatro grandes bloques.

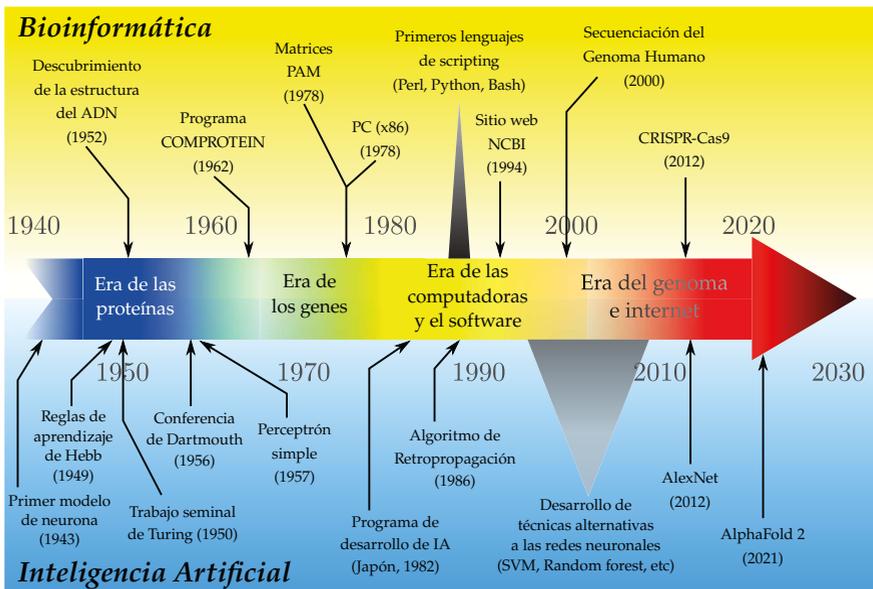


Figura 11.1. Línea temporal con algunos eventos relevantes para bioinformática e inteligencia artificial

LA ERA DE LAS PROTEÍNAS

No es sencillo definir cuando nació la bioinformática, pero podemos considerar su inicio a finales de los 50, cuando se publicó la primera secuencia de una proteína: la insulina (Sanger y Thompson, 1953). Esto despertó el debate acerca de la relación entre la secuencia y la estructura de las proteínas, acelerando la carrera para desarrollar métodos eficientes para obtener secuencias. Si bien la automatización del método de Edman (Li y Chen, 2014) permitió obtener las secuencias en forma relativamente rápida, su eficiencia se limitaba a secuencias con hasta 50–60 aminoácidos. Por lo tanto, las proteínas de mayor tamaño debían ser fragmentadas para poder emplear esta técnica. Esto creó la necesidad de empalmar las secuencias parciales para conocer la secuencia original. Aunque el empalme manual era posible, la tarea era compleja.

En respuesta a este desafío, Margaret Dayhoff y Robert Ledley desarrollaron el programa COMPROTEIN en 1962, uno de los primeros desarrollos bioinformáticos (Dayhoff y Ledley, 1962). Este ensamblador de secuencias, escrito usando tarjetas perforadas, permitía reconstruir la secuencia completa de forma automática. Originalmente empleaba tres letras para la codificación de los aminoácidos, pero Dayhoff lo simplificó proponiendo la codificación de una letra que se usa en la actualidad. Este avance hizo posible que se creara en 1966 la primera base de datos de secuencias de proteínas (Hersh,

1967), y abrió las puertas para el estudio comparativo de secuencias y el análisis de ancestros comunes. Sin embargo, dos grandes avances fueron claves para lograr esto. Por un lado, el desarrollo de algoritmos eficientes para alineamiento de secuencias, que permitió identificar variaciones en la composición de aminoácidos para proteínas similares (Needleman y Wunsch, 1970). Por el otro, la elaboración del primer modelo probabilístico de sustitución de aminoácidos (Dayhoff y Schwartz, 1978) hizo posible cuantificar la probabilidad de que un aminoácido sea reemplazado por otro en un intervalo de tiempo dado. Estos modelos se conocen hoy en día como matrices PAM, y se emplean frecuentemente para la identificación de ancestros.

En paralelo, descubrimientos como la estructura del ADN y su identificación como fuente del transporte de información biológica comenzaron a darle mayor relevancia al papel que cumple esta molécula. Además, cuando Francis Crick propone en 1958 lo que conocemos como el *Dogma Central de la Biología* (ADN → ARN → Proteína) (Lodish *et al.*, 2005), el foco de las investigaciones giró drásticamente hacia el estudio del ADN. Esto llevó a pensar que el simple conocimiento de la secuencia del ADN, de la estructura de los 64 codones, y cómo traducirlos a aminoácidos sería suficiente para desentrañar los misterios de la biología.

La era de los genes

El método de secuenciación de ADN desarrollado por Frederick Sanger (Sanger y Nicklen, 1977) en 1977 fue esencial para el avance en el estudio de los genes y el genoma. Mientras que las proteínas deben purificarse individualmente antes de secuenciarlas, este avance permitía obtener la información completa del organismo de una forma simple. Sin embargo, el análisis de la información presentó mayores desafíos dado que además del volumen de datos producidos, también era necesaria la traducción desde el lenguaje del ADN al de las proteínas. Claramente, antes de estudiar y comparar secuencias de proteínas para diferentes genomas debía realizarse este proceso. Sin embargo, el trabajo con proteínas demostró que el análisis de la información podía realizarse fácilmente empleando computadoras. Así, en 1979 se desarrolló el primer conjunto de herramientas bioinformáticas para manipular secuencias de ADN y buscar solapamientos.

Pese a las posibilidades que brinda la secuenciación, los genes presentan naturalmente una abundancia que es varios órdenes de magnitud menor que las proteínas, por lo que es necesario contar con grandes cantidades de muestra para cualquier tipo de análisis. Fue gracias al desarrollo de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en 1983 (Mullis y Faloona, 1987) que esta limitación fue superada, ya que permitía incrementar la cantidad de material genético disponible incluso en pequeñas cantidades de muestra. Esto no solo permitió abordar estudios más complejos, sino que también generó una explosión en el volumen de datos de secuencias disponibles.

La era de las computadoras y el software

Antes de 1970, una *minicomputadora* tenía las dimensiones y el peso de una heladera. Su tamaño y costo hacían que su adquisición fuera engorrosa para pequeños grupos de trabajo. La primera oleada de *microcomputadoras* llegó al mercado de consumo en 1977. Eran pequeñas, económicas y relativamente fáciles de usar, lo que impulsó el desarrollo de software bioinformático para estos equipos. Incluso, algunos desarrolladores comenzaron a ofrecer copias gratuitas del código bajo demanda, dando relevancia a un movimiento que promovía el intercambio de software en el mundo de la programación. Luego, en 1985 surgió la filosofía del software libre de la mano de Richard Stallman (fundador del movimiento GNU), y fue el núcleo de varias iniciativas para el desarrollo de alternativas libres a herramientas bioinformáticas existentes.

Durante la década de 1980, diferentes laboratorios reconocidos internacionalmente (EMBL, GenBank, DDBJ) se unieron para estandarizar el formato y la información mínima de las secuencias que se debe proporcionar. Fue también durante esta época que la bioinformática se hizo lo suficientemente presente en la ciencia moderna como para tener una revista dedicada (Gauthier *et al.*, 2019). Dada la mayor facilidad de acceso a las computadoras y el enorme potencial para realizar análisis que brindaban, en 1985 se creó una revista especializada en bioinformática: *Computer Applications in the Biosciences*. Esta revista actualmente continúa existiendo bajo el nombre *Bioinformatics*.

Una nueva clase de computadora personal surgió a principios de los '80, con la llegada de los microprocesadores x86. Estas brindaban la posibilidad de disponer de computadoras de propósito múltiple, tanto para aplicaciones técnicas y científicas como para el hogar. Por otro lado, hasta ese momento la escritura de programas estaba dominada por lenguajes compilados como el C y el Fortran. Sin embargo, a mediados de esta década también surgieron varios lenguajes de *scripting* que continúan siendo populares en bioinformática. Estos permitían escribir programas elaborados empleando simples secuencias de comandos, de manera similar a como si se estuviera escribiendo un texto. Dos ejemplos muy conocidos en el ámbito de la bioinformática son Perl y Python. Perl fue creado en 1987 con el objetivo de facilitar el manejo de texto, pero debido a su flexibilidad y a la incorporación de funcionalidades para trabajar en bioinformática (librería *BioPerl*) en 1996, fue muy utilizado hasta finales de la década de 2000. Python fue un lenguaje creado en 1989 con el propósito de tener un vocabulario y una sintaxis que facilitarían la lectura y el mantenimiento de los programas. A partir de la incorporación de funcionalidades para el trabajo en bioinformática en el año 2000, este se ha vuelto uno de los lenguajes más importantes en el análisis bioinformático. Como podría esperarse, estas herramientas facilitaron el análisis de secuencias y permitieron realizar estudios cada vez más complejos, tales como el análisis de genomas completos desde principios de los '90.

La era del genoma e internet

A pesar de algunos resultados previos, se considera que la era del genoma da inicio oficialmente con la secuenciación del Genoma Humano a principios del siglo XXI. Dos actores fueron parte de este hito. El Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos (NIH, por sus siglas en inglés) y la empresa biotecnológica Celera Genomics. Mientras que el NIH requirió 13 años para completar la tarea, Celera Genomics lo hizo en sólo tres años empleando otra estrategia de secuenciación. Pese a esta diferencia, en ambos casos fue necesario el desarrollo de nuevos procedimientos de laboratorio y el diseño de herramientas bioinformáticas especializadas. Estas tecnologías han continuado su evolución, permitiendo que la secuenciación de un genoma humano en 2018 costara alrededor de USD 1000 y llevara menos de una semana (Gauthier *et al.*, 2019). Este proyecto es uno de los muchos que dio origen a una nueva forma de hacer investigación, que hoy constituyen lo que se conoce como ciencias-ómicas. Estas tienen por objetivo estudiar un gran número de moléculas implicadas en el funcionamiento de un organismo. Así, mientras que para la genómica el objeto de estudio es el genoma, la proteómica busca estudiar el conjunto completo de proteínas en un organismo y sus interacciones.

Otro actor importante en esta etapa fue internet, que comenzó a tomar relevancia a principios de los '90. Fue a través de esta red de redes que el proyecto de secuenciación del genoma humano financiado por el NIH puso sus datos a disposición del público (Gauthier *et al.*, 2019). Pronto, esta red se volvió en omnipresente en el mundo científico, facilitando la forma en que se comparte información y software. Esta tecnología permitió que desde 1993 esté disponible la primera base de datos de secuencias de nucleótidos del mundo, la *Biblioteca de Datos de Secuencias de Nucleótidos del EMBL*, y el sitio web del NCBI desde 1994 (incluyendo la herramienta BLAST, que permite realizar alineaciones de secuencias de forma eficiente) (Gauthier *et al.*, 2019). El auge de los recursos web también amplió y simplificó el acceso a las herramientas bioinformáticas, principalmente a través de servidores web mediante interfaces gráficas simples. Esta tendencia ha continuado siendo tan importante, que la revista *Nucleic Acids Research* publica cada año un número especial sobre estas herramientas.

Un aspecto que ha acompañado a estos desarrollos es el aumento exponencial de las secuencias en las bases de datos públicas. De hecho, la comunidad científica ha generado datos que ya superan el nivel de los exabytes (para tener una idea, un exabyte equivale a 1,5 billones de CDs) (Li y Chen, 2014). Eso ha evidenciado la necesidad de disponer de importantes recursos computacionales para almacenar y manipular estos grandes volúmenes de datos y facilitar su acceso. Así es como han surgido nuevas infraestructuras para organizar la información en base a «organismos modelo», como *Drosophila*,

Saccharomyces y Humanos, que proporcionan recursos unificados y especializados para la comunidad científica que trabaja en estos organismos.

Claramente, los avances en bioinformática han sido siempre en respuesta a los desarrollos logrados en el campo de la biología y de la computación. Tecnologías como CRISPR–Cas9 y la secuenciación de células individuales (*single cell sequencing*, en inglés) prometen ser claves para avanzar en el entendimiento de los sistemas biológicos y sus componentes. Desde el punto de vista computacional, el aumento en la capacidad de cómputo y la accesibilidad creciente a dispositivos con mayor potencia y a menores costos será clave para el modelado de interacciones complejas. Además, la Inteligencia Artificial, un campo floreciente en los últimos tiempos, ha demostrado ser un actor fundamental para los avances actuales y futuros en bioinformática.

INTELIGENCIA ARTIFICIAL

La Inteligencia Artificial (IA) se encuentra en casi cada aspecto de nuestras vidas, y su objetivo es desarrollar programas con la habilidad de aprender y razonar cómo los seres humanos (Poole, Mackworth y Goebel, 1998). Sin embargo, esta disciplina no es nueva y lleva años siendo desarrollada. Aunque no es fácil precisar su origen, el trabajo publicado por Alan Turing en 1950 (Turing, 1950) podría considerarse como el punto de partida. Allí estableció las bases para la creación de máquinas inteligentes y la evaluación de su inteligencia a través del *test de Turing* (Turing, 1950). Este propone que una máquina puede ser considerada inteligente, cuando un humano es incapaz de identificar si está interactuando con otro humano o con dicha máquina. También introdujo otras ideas como el aprendizaje maquina, los algoritmos genéticos y el aprendizaje por refuerzo (Russell y Norvig, 2010). Estas ideas dieron lugar al desarrollo de la disciplina a través de dos enfoques. El «modelado del contenido» buscaría construir representaciones que permitieran organizar y manipular el conocimiento para resolver diversas tareas. En cambio, el «modelado del continente» buscaría modelar directamente las estructuras que manipulan el conocimiento, como es el caso de las neuronas biológicas.

Modelado del contenido

Ciertamente, el término IA tuvo su aparición por primera vez en la conferencia de Dartmouth en 1956. De ella participaron matemáticos y científicos informáticos destacados, como Marvin Minsky y Claude Shanon. Muchos de

ellos estaban interesados en la demostración de teoremas y algoritmos que pudieran ser comprobados mediante computadoras. Las ideas discutidas en este encuentro dieron como resultado casi dos décadas de desarrollos prometedores en IA. Un ejemplo es el *Programa General de Resolución de Problemas* (Haenlein y Kaplan, 2019), capaz de resolver automáticamente el problema de las *Torres de Hanoi*. Este tipo de enfoques suponía que cualquier problema que pudiera describirse mediante un código de programación tenía solución, sin importar si se trataba de la demostración de un teorema matemático o una partida de ajedrez. Su resolución implicaría primero representar el conocimiento mediante algún formato informático legible, y luego se buscaría la solución explorando todos los posibles escenarios. Por ejemplo, en una partida de ajedrez existiría una representación del tablero, las piezas y los posibles movimientos, y la mejor movida se obtendría luego de explorar todas las posibilidades.

Sin embargo, el optimismo que acompañó a los primeros éxitos condujo a predicciones acerca de la IA que resultaron exageradas. Una de las razones que limitaron el éxito de estos «sistemas expertos» es que pretendían simular la inteligencia humana mediante conjuntos de reglas, ya que la resolución de problemas reales no siempre es tan simple. La otra razón es la dificultad para manejar el número de escenarios que deben explorarse en situaciones reales. La famosa supercomputadora Deep Blue era capaz de jugar al ajedrez construyendo un árbol con los posibles movimientos propios y de su oponente. Luego elegía la respuesta más conveniente a partir de la exploración de las posibles combinaciones. Este proceso debía ser realizado de forma muy rápida y era necesario disponer de grandes cantidades de memoria para almacenar el árbol construido. Si bien el juego de ajedrez puede parecer muy complejo, sólo se trata de un tablero con 64 casilleros y 32 piezas con movimientos predefinidos. En los problemas que se encuentran en la vida real, la cantidad de opciones es mucho mayor, por lo que resulta poco práctica esta aproximación.

Luego de un período de retroceso sufrido por la falta de financiamiento a causa de estos resultados, en 1982 Japón lanzó un plan para estimular el desarrollo integral de la IA, que contemplaba tanto software como hardware (Haenlein y Kaplan, 2019). Esto sirvió como catalizador e hizo que en EE. UU., Europa y el Reino Unido se gestara un movimiento centrado en la construcción de *Sistemas Basados en Conocimiento Inteligente*. Este nuevo enfoque buscaba modelar el conocimiento en un dominio de aplicación específico. Por ejemplo, con estos *nuevos sistemas expertos*, se esperaba que fuera posible realizar el diagnóstico médico de una enfermedad infecciosa incorporando al sistema conocimiento específico. Este podría adquirirse a partir de expertos humanos, ya que a menudo este tipo de conocimiento puede describirse en forma de reglas. Luego, un software de inferencia podía utilizar este conocimiento para extraer conclusiones y realizar un diagnóstico. Sin embargo,

a pesar de estos prometedores desarrollos, los sistemas expertos todavía carecen del sentido común que los seres humanos adquirimos desde el día en que nacemos. Por tal motivo, resulta necesario continuar investigando nuevos mecanismos para modelar adecuadamente estas características humanas.

Modelado del continente

El campo de la IA no sólo ha buscado construir programas capaces de manipular representaciones simbólicas para resolver una tarea. La inteligencia computacional es una disciplina que ha emergido desde la IA trayendo nuevos modelos capaces de adaptarse automáticamente a partir de los datos, utilizando estrategias más relacionadas con los métodos numéricos que con el procesamiento simbólico. Dicha capacidad le permite a estos sistemas aprender directamente a partir de los datos, construir reglas de inferencia y generalizar el conocimiento. Así, esta disciplina busca modelar explícitamente los elementos que contienen al conocimiento mismo.

De entre las primeras contribuciones en esta rama se pueden destacar los trabajos de McCulloch y Pitts, quienes propusieron en 1943 el primer modelo de una neurona artificial. También el de Donal Hebb, quien demostró en 1949 la existencia de un mecanismo sencillo responsable de actualizar la fuerza de conexión entre neuronas biológicas (Russell y Norvig, 2010). Este proceso, hoy conocido como *aprendizaje hebbiano*, establece que la sinapsis entre dos neuronas se ve reforzada cuando ambas interactúan en respuesta a un estímulo. Tomando estas ideas, fue Frank Rosenblatt quien luego propuso en 1957 el modelo del perceptrón, una neurona artificial capaz de aprender automáticamente a partir de datos (Rosenblatt, 1957). Este modelo constituye el bloque de construcción para la mayor parte de las redes neuronales de la actualidad.

A pesar de estos avances, las neuronas artificiales y las investigaciones asociadas fueron dejadas de lado por mucho tiempo debido al trabajo publicado en 1969 por Minsky y Papert (Minsky y Papert, 1969). Este demostraba que aunque estas neuronas eran capaces de aprender, sólo podían resolver problemas simples y sin aplicación práctica.

Un desarrollo clave realizado en 1986 reavivó el interés por los modelos neuronales. Aunque se habían hecho avances para construir redes de neuronas interconectadas, todavía no existía un mecanismo sencillo para entrenarlas. Así, fue la propuesta del algoritmo de retropropagación realizada por Rumelhart, Hinton y Williams lo que permitió el desarrollo de las redes neuronales (Rumelhart, Hinton y Williams, 1986). Este nuevo verano experimentado por los modelos neuronales llegó a su fin a finales del siglo xx, debido a diversas dificultades encontradas para entrenar modelos de gran tamaño y complejidad. Sin embargo, esto permitió el desarrollo de otras técnicas que

brindaron mejores desempeños (Engelbrecht, 2007), tales como las Máquinas de Soporte Vectorial (svm, por sus siglas en inglés) y los métodos de ensambles de clasificadores, donde Random Forest es el más conocido.

En 2012 el equipo de Geoffrey Hinton desarrolló AlexNet (Krizhevsky, Sutskever y Hinton, 2017), un modelo con ocho capas de neuronas capaz de resolver tareas de clasificación de imágenes. Con este modelo participaron de ImageNet, una competencia internacional de clasificación de imágenes, consiguiendo un desempeño sorprendente. AlexNet logró una precisión de aproximadamente 85 %, superando en casi 10 % a los demás participantes. Esto también marcó un punto de quiebre respecto de los desempeños alcanzados durante la década previa. Otro aspecto novedoso fue el entrenamiento del modelo, el cual se realizó utilizando placas gráficas (comúnmente conocidas como GPU, similares a las usadas en las PC para jugar juegos en alta definición). Esto permitió reducir drásticamente los tiempos de entrenamiento de AlexNet. En una comparación realizada por Ciresan (Ciresan et al., 2011), donde entrenaron un modelo similar a AlexNet empleando una computadora personal y una GPU, mostraron que el entrenamiento era 60 veces más rápido con el uso de estas placas. Este hito despertó una vez más el interés en los modelos neuronales, el cual continúa hasta la actualidad.

El desarrollo que ha experimentado la tecnología de cálculo detrás de las GPU y la aparición de herramientas como TensorFlow y PyTorch, que permiten programar estos modelos usando el lenguaje Python, han hecho que la construcción y entrenamiento de modelos neuronales sea cada vez más simple. Esto sumado a los logros alcanzados con estas «redes profundas» (nombre que reciben debido a que poseen más de tres capas de neuronas) ha llevado a que sean cada vez más aplicadas en todos los campos de la ciencia, e incluso en la vida cotidiana. Un claro ejemplo es la capacidad que poseen actualmente las máquinas para entender comandos de voz, traducir entre idiomas en tiempo real, o la habilidad que han desarrollado algunos programas para jugar juegos igual o mejor que un ser humano. Incluso se ven demostraciones de cómo las redes profundas son capaces de reemplazar en una fotografía o video el rostro de una persona por el de otra (famosos *deepfakes*).

Claramente, el éxito de las redes profundas está llevando a que la investigación en IA se vuelque principalmente hacia este tipo de técnicas de aprendizaje automático. Sin embargo, aunque hasta ahora se ha hecho énfasis en las redes neuronales, debe recordarse que la IA es mucho más amplia e involucra un gran número de áreas que no se han abordado en estas páginas. Del mismo modo que ha ocurrido antes, es posible que los próximos avances vengan de la mano de otras áreas de la IA, por lo que no deben ser descuidadas. Importantes técnicas como la lógica difusa, los algoritmos evolutivos y los algoritmos de inteligencia colectiva también forman parte de lo que conocemos como IA y han contribuido en gran medida al desarrollo de la disciplina y a la resolución de problemas. De este modo, dejo al lector la tarea de explorar este fascinante mundo de la inteligencia computacional.

Aprendizaje automático

El aprendizaje automático es una de las áreas de investigación dentro de la IA que ha tomado gran relevancia en las últimas décadas. Tiene como objetivo el desarrollo de programas capaces de *aprender* sin la necesidad de ser explícitamente programados para la tarea. En muchos casos, estos programas suelen estar inspirados en la biología y buscan replicar su funcionamiento. Por ejemplo, algunas redes neuronales artificiales emulan el funcionamiento de las redes biológicas aprendiendo a realizar tareas de manera similar a como aprende un niño.

Los desarrollos llevados a cabo en el contexto del aprendizaje automático suelen basarse en tres enfoques: aprendizaje supervisado, aprendizaje no supervisado y aprendizaje por refuerzo. Estas pueden ser consideradas como las más generales, pero existen otras estrategias que combinan diferentes características. Además, si bien estas estrategias de aprendizaje suelen asociarse principalmente a las redes neuronales, las mismas son generales y pueden ser aplicadas también con otro tipo de modelos. A modo de resumen, en la figura 11.2 podemos ver un esquema con las tres estrategias y algunos ejemplos de uso, así como un rápido pantallazo mostrando cómo el aprendizaje automático está inserto dentro del campo de la Inteligencia Artificial.

El aprendizaje supervisado es una estrategia que emula la forma en que un niño aprende a partir de ejemplos. Al realizar una tarea, el niño compara su resultado con el intenta imitar, y aprende de los errores que comete al intentar completar la tarea. Siguiendo esta idea, una red neuronal puede ser entrenada para que aprenda a establecer relaciones (encontrar una función matemática) a partir de los datos disponibles. En este caso los datos provistos son pares (dato de entrada, resultado deseado) entre los que se desea aprender una relación, y la función corresponde a un valor numérico (problemas de regresión) o una etiqueta de clase (problemas de clasificación). El objetivo perseguido con esto es lograr que la red neuronal generalice el conocimiento adquirido durante su entrenamiento, y sea capaz de generar una respuesta correcta frente a datos no vistos previamente.

El aprendizaje no supervisado implica un enfoque diferente, en el que el objetivo es descubrir relaciones en los datos, pero sin disponer de un conocimiento previo y sin información acerca de la correctitud de las soluciones. Entre los métodos que emplean este mecanismo de aprendizaje se encuentran los algoritmos de agrupamiento (*clustering*, en inglés), capaces de agrupar los datos de acuerdo con algún criterio y poner en evidencia

relaciones entre ellos, y la reducción de dimensiones, que puede emplearse para hacer compresión de datos.

El aprendizaje por refuerzo es otra área del aprendizaje automático cuyo objetivo consiste en determinar qué acciones debe escoger un agente de software en un entorno dado con el fin de maximizar algún tipo de recompensa. Podemos pensar en un agente como un programa capaz de percibir su entorno mediante sensores y realizar acciones en base a los estímulos recibidos. Así, mediante esta forma de aprendizaje, el agente puede aprender directamente de la experiencia adquirida durante la interacción con el entorno.

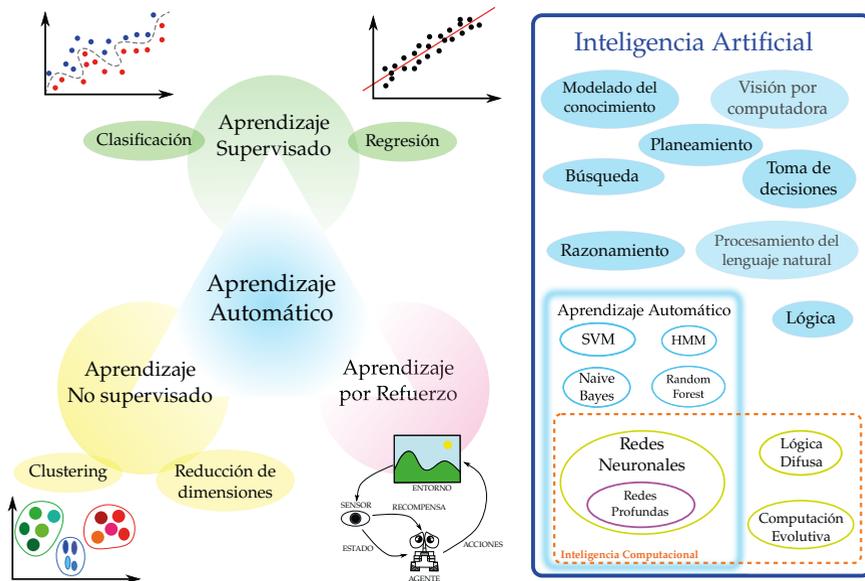


Figura 11.2. Aprendizaje automático: (izquierda) estrategias de aprendizaje; (derecha) algoritmos representativos

La posibilidad de aprender de manera automática, y la capacidad para descubrir patrones ocultos justifican los sorprendentes resultados proporcionados en los últimos años por estos métodos, y en particular por los métodos que emplean redes profundas (aprendizaje profundo). A pesar de esto, los sistemas de aprendizaje automático siguen estando todavía limitados a la resolución de tareas en dominios específicos. Afortunadamente, cada día se avanza más en la integración de estos desarrollos hacia una Inteligencia Artificial General, capaz de aprender y razonar para resolver tareas complejas en múltiples escenarios, e interactuar con los seres humanos como iguales.

BIOINFORMÁTICA Y APRENDIZAJE AUTOMÁTICO

El aprendizaje automático se ha vuelto un aliado de suma utilidad en tareas de análisis, interpretación y descubrimiento de conocimiento en grandes volúmenes de datos, permitiendo la resolución de una amplia variedad de problemas bioinformáticos. Un ejemplo reciente es *AlphaFold 2* (Jumper *et al.*, 2021), un sistema desarrollado en 2021 por la división de IA de Google. Este se basa en un modelo de aprendizaje profundo, y busca predecir cómo se plegará una proteína partiendo de la secuencia de aminoácidos. El modelo fue entrenado utilizando el equivalente a 200 GPUs durante algunas semanas, y alrededor de 170 000 estructuras de proteínas conocidas. Como resultado este modelo es capaz de predecir con una elevada precisión (cercana a 90 %) las estructuras a partir de sus secuencias.

La Universidad Nacional del Litoral (UNL) también cuenta con un grupo de investigación en bioinformática. Desde hace tiempo que el Instituto de Investigación en Señales, Sistemas e Inteligencia Computacional (SINC(i)), dependiente de UNL y CONICET, realiza investigaciones de vanguardia en los campos de la inteligencia computacional y la bioinformática. Si bien el listado completo de los algoritmos, trabajos científicos y herramientas se encuentran disponibles en la página web, se describirán brevemente algunos de estos desarrollos.

omesom (Milone; Stegmayer;...; Carrari, 2010), por ejemplo, es una herramienta basada en redes neuronales que utiliza aprendizaje no supervisado para encontrar relaciones entre genes y metabolitos (por ejemplo, glucosa). Esto permite agrupar genes y metabolitos que presentan un comportamiento similar y coordinado, facilitando la identificación de aquellos que participan de un mismo proceso biológico. Otro ejemplo es DL4Papers (Bugnon; Yones;...; y Stegmayer, 2020), una herramienta basada en aprendizaje profundo, capaz de analizar documentos científicos e identificar relaciones entre palabras clave. Esta herramienta puede ser de utilidad en el campo de la salud, dado que es capaz de analizar de forma automática un gran volumen de artículos

de la literatura médica. A partir de este análisis se puede generar un ranking indicando, por ejemplo, aquellos trabajos en los que se describen tratamientos que muestran resultados prometedores para algún tipo específico de cáncer.

Además de los modelos basados en redes neuronales, también se desarrollan herramientas basadas en otras ramas de la inteligencia computacional. Evoms (Gerard; Stegmayer y Milone, 2016), por ejemplo, está basado en computación evolutiva. Esta herramienta emplea una población de soluciones y el principio de supervivencia del más apto para buscar vías metabólicas que relacionen simultáneamente múltiples metabolitos. Phdseeker (Gerard; Stegmayer y Milone, 2018) es otra herramienta bioinspirada que se basa en el comportamiento de las hormigas para diseñar vías metabólicas lineales y ramificadas.

COMENTARIOS FINALES

La aparición de las computadoras en el siglo xx, sumado a la mejora continua de las tecnologías de laboratorio han permitido llevar adelante investigaciones cada vez más desafiantes en el campo de la biología. Por otra parte, la IA ha tomado un papel preponderante en los desarrollos bioinformáticos de los últimos años, contribuyendo a la integración de diversas fuentes de información y al entendimiento de relaciones de gran complejidad. Claramente, esta conjunción ha permitido que la biología adopte un enfoque más holístico hacia la revolución de las ciencias «-ómicas», aunque todavía con escasa interrelación entre ellas. En base a esto es posible anticipar el siguiente paso: en lugar de investigar de forma independiente genomas, transcriptomas o metabolomas completos, el desafío será considerar las interacciones buscando así modelar computacionalmente organismos vivos enteros y sus entornos, teniendo en cuenta todas las partes de forma simultánea. Es ahí donde la IA y los nuevos modelos que se desarrollen jugarán un papel clave para la bioinformática.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUGNON, L.; YONES, C.; ...; STEGMAYER, G.** (2020). DL4papers: a deep learning approach for the automatic interpretation of scientific articles. *Bioinformatics*, 36(11), 3499–3506.
- CIREŞAN, D.; MEIER, U.;...; SCHMIDHUBER, J.** (2011). Flexible, High Performance Convolutional Neural Networks for Image Classification. En *Proceedings of the Twenty-Second international joint conference on Artificial Intelligence* (pp. 1237–1242). Volume Two (IJCAI'11). AAAI Press.
- DAYHOFF, M.; LEDLEY, R.** (1962). COMPROTEIN, a Computer Program to Aid Primary Protein Structure Determination. International Workshop on Managing Requirements Knowledge 1 262.
- DAYHOFF, M.; SCHWARTZ, R.** (1978). Chapter 22: A model of evolutionary change in proteins. En *Atlas of Protein Sequence and Structure* (pp. 345–352). National Biomedical Research Foundation.
- ENGELBRECHT, A.** (2007). *Computational Intelligence. An Introduction*. Wiley (2nd Ed).
- GAUTHIER, J.; VINCENT, A.;...; DEROME, N.** (2019). A brief history of bioinformatics. *Briefings in Bioinformatics*, 20(6), 1981–1996.
- GERARD, M.; STEGMAYER, G.; MILONE, D.H.** (2016). Evolutionary algorithm for metabolic pathways synthesis. *Biosystems*, 144, 55–67.
- GERARD, M.; STEGMAYER, G.; MILONE, D.H.** (2018). Metabolic pathways synthesis based on ant colony optimization. *Scientific Reports*, 8(1), 16398.
- HAENLEIN, M.; KAPLAN, A.** (2019). A brief history of artificial intelligence: On the past, present, and future of artificial intelligence. *California Management Review*, 61(4), 5–14.
- HERSH, R.** (1967). Atlas of Protein Sequence and Structure, 1966. *Systematic Biology*, 16(3), 262–263.
- HERSHEY, A.; CHASE, M.** (1952). Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *Journal of General Physiology*, 36(1), 39–56.
- JUMPER, J.; EVANS, R.;...; HASSABIS, D.** (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* 596(7873) págs 583–589.
- KRIZHEVSKY, A.; SUTSKEVER, I.; HINTON, G.** (2017). Imagenet classification with deep convolutional neural networks. *Communications of the ACM*, 60(6), 84–90.
- LI, Y.; CHEN, L.** (2014). Big Biological Data: Challenges and opportunities. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 12(5), 187–189.

- LODISH, H.; BERK, A.;...; DARNELL, J.** (2005). *Biología Celular y Molecular*. Editorial Médica Panamericana (5 Ed.)
- MILONE, D.H.; STEGMAYER, G.;...CARRARI, F.** (2010). 'omeSOM: a software for clustering and visualization of transcriptional and metabolite data mined from interspecific crosses of crop plants. *BMC Bioinformatics*, 11(1), 438, 1-10.
- MINSKY, M.; PAPERT, S.** (1969). *Perceptrons: An Introduction to Computational Geometry*. MIT Press.
- MULLIS, K.; FALOONA, F.** (1987) [21] Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. En *Recombinant DNA* (pp. 335-350). Part F. Academic Press.
- NEEDLEMAN, S.; WUNSCH, C.** (1970). A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *Journal of Molecular Biology*, 48(3), 443-453.
- NIRENBERG, M.; LEDER, P.** (1964). RNA codewords and protein synthesis. The effect of trinucleotides upon the binding of sRNA to ribosomes. *Science*, 145(3639), 1399-1407.
- POOLE, D.; MACKWORTH, A.; GOEBEL, R.** (1998). *Computational Intelligence: A Logical Approach*. Oxford University Press.
- ROSENBLATT, F.** (1957). The Perceptron - A Perceiving and Recognizing Automaton. Report 85-460-1, project PARA, Cornell Aeronautical Laboratory.
- RUMELHART, D.; HINTON, G.; WILLIAMS, R.** (1986). Learning representations by back-propagating errors. *Nature*, 323(6088), 533-536.
- RUSSELL, S.; NORVIG, P.** (2010). *Artificial Intelligence: A Modern Approach*. Prentice Hall (2nd Ed.)
- SANGER, F.; THOMPSON, E.** (1953). The amino-acid sequence in the glycol chain of insulin. 1. The identification of lower peptides from partial hydrolysates. *Biochemical Journal*, 53(3), 353-366.
- SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A.** (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *PNAS*, 74(12), 5463-5467.
- TURING, A.** (1950). I.-Computing Machinery And Intelligence. *Mind*, LIX(236), 433-460.
- WATSON, J.; CRICK, F.** (1953). Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose. *Nucleic Acid. Nature*, 171(4356), 737-738.

12 Bioética y Biotecnología

MARÍA CAROLINA CAPUTTO ·
ALEJANDRO RAÚL TROMBERT

*La preocupación por el hombre mismo y su destino
debe siempre constituir el interés principal de todos
los esfuerzos tecnológicos.*

ALBERT EINSTEIN, 1931

INTRODUCCIÓN

A esta altura de las circunstancias, y en el marco de lo desarrollado en los capítulos precedentes de esta obra, no queremos redundar sobre el tremendo desarrollo que en las últimas décadas ha tenido la biotecnología, entendida como «la aplicación de la ciencia y la tecnología a los organismos vivos, así como a partes, productos y modelos de los mismos, para alterar materiales vivos o no, con el fin de producir conocimientos, bienes o servicios» (OECD, 2005).

Sí poner de relieve su importancia histórica, recordando que una de las primeras biotecnologías —tradicionales— fue la agricultura, fenómeno de enorme trascendencia que reconoce su origen hace más de diez mil años, en varios puntos del planeta: en Mesopotamia y Egipto (cultivo de trigo y cebada), en Mesoamérica (maíz) y en el este de Asia (arroz). Tuvo entre sus variadas consecuencias el surgimiento del comercio —los excedentes de las cosechas se intercambiaban por otros productos—, la progresiva división del trabajo, el crecimiento de la población y el asentamiento en ciudades, debido a que los seres humanos paulatinamente fueron abandonando su carácter de cazadores-recolectores y nómades. Desde ese momento, la humanidad ha empleado su conocimiento sobre las plantas y los animales para mejorar la producción de alimentos y seleccionar especies para diferentes fines.

Cuando las consecuencias que provoca determinado avance tecnocientífico son tan radicales —en el caso dado, el cambio en el modelo de producción—, se habla de revolución y, así como aconteció con las revoluciones industriales de los siglos XVIII a XX, la surgida mediante la biotecnología trasciende los límites de la ciencia y la técnica, proyectando profundos cambios en el mundo social e individual, afectando la forma en que el hombre ve el mundo y el sentimiento de su propio ser y valer, que lo hace una persona diferente (Martínez Torremocha, 2004).

Si la biotecnología tradicional produjo tal modificación del mundo, la biotecnología moderna no se quedó atrás: se indica su origen a partir de la segunda mitad del siglo xx con la publicación de la estructura molecular del ADN por parte de los científicos James Watson y Francis Crick en *Nature*, en base a los hallazgos de la química y cristalógrafa Rosalind Franklin. Este descubrimiento les valió a Watson y Crick el Premio Nobel de Medicina en 1962, junto a Maurice Wilkins. Esta biotecnología se consolidó con los aportes de la ingeniería genética, la genómica (y las «ómicas» en general) y la bioinformática.

Los conocimientos biotecnológicos desarrollados en las últimas décadas tienen una potencialidad transformadora del mundo y de la propia naturaleza humana absolutamente innegables. Solo a manera de ejemplo podríamos mencionar los organismos transgénicos, el incremento exponencial de la productividad agrícola-ganadera, la clonación de mamíferos, con el antecedente de la oveja «Dolly» (1997), las nuevas técnicas diagnósticas, terapéuticas y genéticas en materia de salud humana, tales como las vacunas, la reproducción asistida, la técnica de edición genética, entre otros. Sobre aquella potencialidad, una reflexión ética merece ser hecha: aquella que indague acerca del rol y los fines de la biotecnología hoy, sobre si algunas de sus aplicaciones contribuyen a mejorar las condiciones de vida de los seres humanos en el planeta, aun así, si lo hacen respetando la supervivencia de los demás seres vivos y garantizando la sostenibilidad del ambiente. En esta tarea es que interviene la Bioética, a través de un abordaje y una metodología novedosos.

SOBRE EL SURGIMIENTO Y LA CONSOLIDACIÓN DE LA BIOÉTICA

Pfeiffer (2015) hace un interesante análisis de cómo se percibió desde el s. xviii la idea según la cual el desarrollo se encontraba asociado al conocimiento científico, y que este implicó perfeccionamiento y progreso. Unido a una especie de fe ciega en la ciencia y a una inocente creencia en su neutralidad moral, a las ideas nacidas de las distintas revoluciones políticas e industriales y al surgimiento de una filosofía fundada en la razón, el hombre moderno terminó emancipándose de todo poder que viniera de la divinidad, empoderándose como ser racional. El posterior cuestionamiento a una concepción ingenua del progreso necesariamente debe también alcanzar a la ciencia, «porque ninguno de los dos cumplieron con su promesa de hacer a los hombres más buenos, más libres, más felices» (31). La idea recurrente de la neutralidad valorativa del conocimiento científico también fue puesta en discusión luego de percibirse el enorme poder destructivo de las bombas atómicas que cayeron sobre Hiroshima y Nagasaki en 1945.

Tal cuestionamiento, junto con la reflexión acerca de las implicancias del desarrollo científico y tecnológico, constituyen temas nodales sobre los que trabaja la Bioética.

Esta nueva ética aplicada, que en la primera Enciclopedia de Bioética de 1978 Warren Reich conceptualizó como: «El estudio sistemático de la conducta humana, en el área de las ciencias de la vida y el cuidado de la salud, en cuanto dicha conducta es examinada a la luz de los principios y valores morales», ha pasado con el tiempo a incluir otras dimensiones tales como el género, a contextualizar los problemas incluyendo una visión social, ambiental y multicultural y delineando de esta manera una visión global de la bioética (UNESCO, 2015). Se caracteriza por ser interdisciplinaria, dialógica y deliberativa, respetuosa del pluralismo moral y de la diversidad cultural, y cuya esencia consiste en cuestionar la rectitud o corrección moral de las prácticas del obrar humano que afectan la salud y la calidad de vida, propia y ajena.

Se impone realizar un breve repaso de sus antecedentes a fin de comprender mejor el sentido del concepto y caracterización recientemente señalados.

Partimos de advertir que, en forma relativamente reciente, se descubrió que en 1927 un pastor y filósofo alemán, Fritz Jahr, publicó un artículo en la prestigiosa revista de ciencias naturales «Kosmos», titulado «Bio-ética: una perspectiva de la relación ética de los seres humanos con los animales y las plantas». No obstante, al origen de la bioética se lo ubica años más tarde, como discurso social frente a una serie de experimentaciones reñidas con toda ética llevadas adelante con prisioneros de los campos de concentración en la Alemania del régimen nacionalsocialista. De hecho, el Código de Núremberg, dictado en 1947 tras los juicios a jefes y científicos nazis, se presenta como el primer instrumento internacional dedicado a fijar las pautas éticas mínimas que han de observarse en toda investigación en la que participen seres humanos. A tal antecedente le seguirá, en 1964, otro importante documento: la llamada Declaración de Helsinki, emanada de la Asociación Médica Mundial. Ambos textos contienen fuertes principios con vocación universalista y proteccionista y constituyeron los cimientos de la sistematización de la ética de la investigación con seres humanos.

Luego, se apunta que en 1971, Van Rensselaer Potter, un bioquímico y oncólogo norteamericano, publicó un libro bajo el título «Bioética. Un puente hacia el futuro», en el que planteaba la necesidad de establecer un lazo de unión entre las ciencias y las humanidades que permitiera a la humanidad vislumbrar un futuro posible para todos en el planeta (Vidal, 2015).

Ahora bien, y pese a la importancia del tema y a las repercusiones de los instrumentos citados, en 1972 distintos medios periodísticos de los EE. UU. revelaron que habían sido llevados adelante en dicho país distintos experimentos con seres humanos, de rotundo reproche ético, muchos de ellos financiados por el Servicio de Salud Pública y los Centros para el Control y

Prevención de Enfermedades, lo cual despertó el repudio de la sociedad. Como consecuencia, el congreso norteamericano designó una Comisión Nacional conformada por especialistas de distintas disciplinas, quienes, luego de un arduo trabajo de más de cuatro años, elaboraron el denominado Informe Belmont. En el mismo se cristaliza una sistematización más definida de la Bioética, posteriormente conocida como clásica o tradicional, de gran difusión y que se sustenta en la aplicación de tres —luego cuatro— principios: respeto por las personas (reducido en cierta medida al concepto de autonomía), beneficencia, justicia y no maleficencia.

Con el tiempo este modelo, de indudable pragmatismo, propio de la cultura norteamericana, fue mostrando sus fisuras y su incompatible implementación en otras regiones como América Latina y el Caribe, en las que se presentan problemas sociales ajenos a aquellas latitudes, tales como la pobreza estructural, el analfabetismo, la malnutrición, la inequitativa distribución de recursos, entre otros. Es así como, incorporando una mirada diversa y más amplia, abarcativa de los determinantes sociales de la salud, con especial hincapié en el deterioro ambiental del planeta —retomando la mirada de Jahr—, surgieron otros modelos de bioética entre los cuales merece destacarse el basado en los derechos humanos, plasmado en la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos (ДУВДН) de la UNESCO de 2005.

Surge así evidente cómo, de manera paulatina, el campo de actuación de esta nueva forma de pensar fue ampliándose, de modo tal que las inquietudes ya no solo abarcaron la participación de personas en investigaciones biomédicas, sino también los conflictos propios de la relación clínica profesional de salud-sujeto de la intervención terapéutica y aquellos relacionados con la preocupación por los límites del desarrollo científico y tecnológico, no solo en su eticidad sino también en el marco de la consabida finitud de recursos en salud, el acceso a las tecnologías y a medicamentos de alto costo, etcétera.

La perspectiva bioética basada en los derechos humanos da cuenta de la manera en que naciones con tradiciones, culturas e historias diferentes, pueden reconocer, respetar y tutelar de manera consensuada un principio ético básico: la dignidad de las personas.

Cabe aclarar que este modelo bioético basado en los derechos humanos no es cronológicamente posterior al modelo principialista del Informe Belmont previamente reseñado, sino que hunde sus raíces en la Europa de la posguerra, con los juicios de Núremberg (1946), la redacción del Código homónimo (1947) y la Declaración Universal de los Derechos Humanos (1948). Sucede que, desde mediados de la década de 1970 en adelante el modelo principialista tuvo un carácter hegemónico y permitió la consolidación de la disciplina y debiendo transcurrir algunos años para que puedan reconocerse sus limitaciones y las consecuencias de su implementación acrítica.

LA INTERPELACIÓN DE LA BIOÉTICA A LOS AVANCES BIOTECNOLÓGICOS HOY

No puede desconocerse que, en términos generales, los avances operados en los distintos ámbitos en que se desarrolla la biotecnología resultan plausibles: la prevención y cura de enfermedades graves o previsiblemente mortales otrora incurables, la posibilidad de optimizar el uso de los suelos, las intervenciones para el saneamiento ambiental, entre otros. No obstante, desde el interior mismo de cada una de las disciplinas involucradas, con una metodología propia y abierta a la participación de otros saberes —en función de su interdisciplinariedad—, la Bioética invita a la reflexión moral sobre distintos aspectos, entre ellos: de qué manera se obtienen los conocimientos científico-tecnológicos, a quiénes sirven, quiénes tienen acceso a los beneficios que ellos reportan, qué usos se pretenden con ellos y, sobre todo, las posibles implicancias a futuro que acarrearán para la humanidad y el planeta.

Así, en lo que atañe al empleo de la biotecnología en materia agrícola, se tiene presente que la «revolución verde» operada a mitad del siglo pasado importó un profundo cambio. Si bien permitió el crecimiento exponencial de la producción, se produjo el reemplazo de la agricultura tradicional por la agroindustria, dominada por empresas multinacionales que impusieron sus criterios y prácticas y en consecuencia, los agricultores perdieron gran parte de su libertad y capacidad creadora, convirtiéndose en los hechos en meros consumidores de las técnicas de producción, las que priorizan las exigencias del mercado a las consideraciones ecológicas. Más aún, en la década de los 90 sobrevino una revolución biotecnológica, basada en la aplicación de las técnicas de ingeniería genética para el desarrollo de semillas transgénicas juntamente con el empleo de agroquímicos, cuyo único propósito es maximizar las ganancias de las multinacionales (Bergel, 2017).

Ahora bien... ¿se sabe fehacientemente cómo afectan los agroquímicos potentes y empleados de manera masiva a los demás seres vivos y a la salud del propio ser humano? ¿Existen estudios que provean suficiente evidencia en torno a la inocuidad de los alimentos transgénicos, sus efectos en la salud humana y en el medio ambiente? ¿Se estudian y/o revelan cuáles son sus grados de posible toxicidad o alergenicidad? Desafiados por la creciente necesidad de alimentar a una población en franco crecimiento demográfico (7800 millones de habitantes en 2021 con una proyección de 10 900 millones en 2100), ¿podemos hipotecar el medio ambiente, la biosfera y la biodiversidad y poner en riesgo a las generaciones futuras, sobre las cuales tenemos el imperativo ético de protección? (arts. 16 y 17 de la ДУВДН). ¿U olvidar de forma permanente el principio «primero no hacer daño» (*primum non nocere*) que acompaña el pensamiento ético occidental desde Hipócrates? ¿Qué garantías existen de la sostenibilidad del planeta y de la supervivencia humana en tanto, bajo el amparo de perfeccionar las

técnicas de producción, se siga promoviendo la extensión de la frontera agrícola? ¿Qué hay de los monocultivos en grandes latifundios y la amenaza de su futura desertificación?

En el campo de la medicina y las ciencias de la salud, el crecimiento sostenido de la industria farmacológica y el fenómeno de la «medicalización de la vida» entre otros, generan sendos interrogantes.

La Bioética busca prevenir, identificar y denunciar los abusos en investigaciones con seres humanos, cuando se obvia la voluntad del sujeto, no se sopesan debidamente riesgos y beneficios, se hace una selección discriminatoria de los participantes, no se garantizan los beneficios posinvestigación, etc. Polemiza sobre la brecha 90/10 y el conexo desinterés de los laboratorios en investigaciones relativas a las llamadas «enfermedades tropicales», que afectan a millones de personas en el planeta, la mayoría habitantes de países en vías de desarrollo, no *rentables* para la industria farmacéutica. También desenmascara el llamado «doble estándar *moral*» que media muchas veces en el desarrollo de vacunas y nuevos fármacos, y que involucra la existencia de distintos parámetros «éticos» y metodológicos empleados en la actividad de pesquisa por la industria farmacéutica y biotecnológica, según se lleve a cabo en países en donde funcionan las casas matrices del complejo médico-industrial-financiero —lógicamente del primer mundo— o en países pobres o en vías de desarrollo.

Los anteriores son considerados problemas clásicos de la Bioética. Hoy por hoy, se suman otros, sobre todo los vinculados a la capacidad de cambio que muestran los conocimientos en genética humana.

Así, los estudios genéticos y la chance de conocer *a priori* predisposiciones a padecer patologías en el futuro, ¿podrían constituirse en fuentes de estigmatización y discriminación laboral o social? (art. 11 ДУВДН). ¿Cuál es el impacto que el conocimiento de un alto riesgo de sufrir una enfermedad grave en el futuro tiene sobre la estabilidad psicológica y emocional del individuo y de su entorno familiar, más aún si se trata de una patología que no tiene cura? Por su parte, la selección embrionaria empleada en reproducción humana asistida genera fuertes interrogantes éticos. ¿Qué criterios se siguen para tal selección?; ¿qué destino siguen los embriones no implantados?; ¿quién lo decide?; etcétera.

En lo que respecta a la ingeniería genética, las «terapias génicas» parecieran en principio éticamente viables. ¿Quién se negaría a evitar, a partir de la edición genética, una enfermedad degenerativa o invalidante a la que está predestinado, uno mismo o un ser querido? Sin embargo, a poco que se ahonde en las consecuencias a gran escala de la técnica, se indaga sobre las posibles proyecciones eugenésicas de la práctica (art. 3 ДУВДН).

Mainetti (2008) sostiene que estamos frente a una «tercera revolución cultural», diferente de la modificación del ambiente que se viene realizando desde el Neolítico y las revoluciones industriales. Se trata de la revolución

tecnocientífica, que le permite esculpir o remodelar la propia naturaleza humana (transformarse a sí mismo) y dirigir la propia evolución biológica y cultural, a través de «dos grandes líneas de continuidad histórica y proyección utópica: una es la biogenética y otra la cibernética, por las cuales el hombre busca reproducirse a sí mismo biológica y artificialmente, recreando el cuerpo orgánico e informando la razón al artificio (“inteligencia artificial”, robótica)» (32-33). Vinculado con ello, cada vez con más fuerza, se instala la emergente noción de «tranhumanismo», o el «*human enhancemet*», la problemática de los datos a gran escala (*Big Data*), la nanotecnología, etc. que corresponden ser tomados con suma prudencia.

Cuarenta años atrás ya existía la preocupación sobre los posibles riesgos y la regulación de la biotecnología, que fue objeto de debate en un importante evento: la conferencia de Asilomar (EE. UU.) sobre el ADN recombinante. Posteriormente, un conjunto de instrumentos normativos manifestó su desacuerdo con todo tipo de práctica contraria a la dignidad humana, tales como la discriminación por motivos genéticos, la clonación humana y la modificación de células que se transmitan a la descendencia, por citar algunos ejemplos. Se incluyen en esta nómina el conocido como Convenio de Oviedo, del Consejo de Europa de 1997 y dos documentos de la UNESCO: la Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos (1997) y la Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos (2003).

Hace algunas décadas se vienen incorporando al mercado medicamentos biológicos de altísima tecnología, sean estos productos innovadores (de referencia) o biosimilares, tales como hormonas, anticuerpos monoclonales para bloquear por ej. la inflamación en la artritis reumatoide y una variedad de medicamentos para tratar el cáncer y otras enfermedades graves. En el caso de los innovadores especialmente, la fuerte inversión por parte de las compañías para su desarrollo se traduce en un elevado costo, de muy difícil cobertura por parte de los sistemas sanitarios, sobre todo aquellos que prevén el acceso universal a las prestaciones de salud como política pública —como la Argentina—. ¿Es éticamente justificable que solo puedan tratarse con ellos quienes tengan capacidad particular de pago? ¿No profundiza tal situación la brecha entre ricos y pobres, generando profundas inequidades? (arts. 8, 10 de la DUBDH). Por otro lado, ¿es éticamente viable aplicar las reglas de libre mercado a los insumos y recursos sanitarios? ¿No deberían algunos de ellos al menos estar liberados de los derechos de patentes?

Aún más: la pandemia desatada a raíz del virus SARS-COV-2, declarada como tal por la OMS en marzo de 2020, mostró el lado más oscuro de las grandes corporaciones financieras que manejan el complejo médico-industrial-financiero, las cuales se negaron a la liberación de las patentes y dieron rienda suelta a la especulación económica cuando es la salud global la que está en juego (Solbakk *et al.*, 2021). La OMS va perdiendo legitimación a medida que gana terreno la Organización Mundial del Comercio (OMC), su

Acuerdo sobre los Aspectos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio (ADPIC) y la Organización Mundial de la Propiedad Industrial (OMPI), y sus miradas mercantilistas sobre la salud.

En lo que atañe a la Biotecnología ambiental, cabe efectuar similares consideraciones, si acaso los esfuerzos existentes de las «tecnologías verdes» por el «desarrollo sustentable» no se encuentran neutralizados por quienes poseen fuertes intereses económico-financieros en mantener los niveles de consumo del actual modelo de producción capitalista. Por otro lado, ¿no se reproduce en materia ambiental el doble estándar ético mencionado respecto de las investigaciones biomédicas, en el que las estructuras productivas degradantes para el ambiente son exportadas por los países centrales a los periféricos porque sus leyes ambientales no las aceptan? (Junges, 2015). ¿No existe acaso evidencia sobre la injusticia ambiental debido a que los países menos favorecidos soportan las consecuencias ambientales de los países desarrollados, cuyos estándares de consumo aportan las mayores emisiones de dióxido de carbono?

Como muestra de la inquietud a nivel global que existe sobre el tema, son de ineludible referencia la Convención sobre la Diversidad Biológica de la ONU (1992, que emplea el mencionado principio de precaución por primera vez en materia ambiental), la Cumbre de la Tierra de Río de Janeiro (1992), la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo Sostenible: Río+20 (2012), las sucesivas Cumbres sobre Cambio Climático, la actual Agenda 2030 sobre Desarrollo Sostenible y, por supuesto, la ДУВДН, sobre todo en su art. 17.

CONCLUSIONES

Llegado a este punto, es dable sostener que la Bioética se presenta como una alternativa para problematizar sobre la eticidad de las prácticas que involucra la incesante evolución científico-tecnológica, que sea pasible de afectar de una manera u otra, en el corto o largo plazo, la salud y la vida del planeta y de quienes lo habitamos.

Previo a ello, bueno es advertir que la biotecnología moderna ejerce un poder de disciplina que se presenta como una expresión de racionalidad científica, poder anónimo de las construcciones textuales que le dan visibilidad, prestigio y autoridad, y tienen el respaldo de la ciencia (Lolas Stepke, 2010). Esta circunstancia definitivamente instala en el ámbito sociopolítico, a un nivel global, el imperativo biotecnológico, por el cual se entiende que toda alteración técnicamente posible sobre las formas de vida es reputada automáticamente como deseable, como algo bueno.

Es que, en el aspecto de la percepción pública, en ningún momento precedente de la historia la distancia entre la capacidad de entendimiento popular y las reales posibilidades de la ciencia fue tan grande (Correa Soares, 2003): el ser humano se deja arrastrar por la sorpresa de alcanzar lo otrora inalcanzable, muchas veces sin una correcta evaluación ética y sin tener cabal conciencia de las repercusiones a futuro de tales descubrimientos, sobre la humanidad y el planeta.

El sistema socioeconómico global, a su vez, no ayuda: la toma de decisiones en lo que atañe a la vida y a la salud del hombre y del ambiente está en manos de unos pocos que manejan la agenda económica global, logrando permear sus intereses hegemónicos a los distintos países del mundo cuyos gobiernos quedan, en gran medida, vacíos de poder.

Teniendo en cuenta tal contexto, la Bioética hoy alude a un nuevo saber que todavía tiene mucho que decir acerca de sí mismo (Chartier y Trombert, 2013) y que —amén de las características dadas— está llamada a ser fundamentalmente crítica, promoviendo el análisis profundo y una mayor problematización del desarrollo biotecnológico, con la lupa puesta en la dignidad y los derechos humanos.

En tanto crítica, la Bioética dejará al margen a espíritus débiles o egoístas, o a quienes sostengan argumentos moralmente endebles, ya que poner en duda hoy día que ciertos conocimientos vinculados al progreso tecno-científico implican un retroceso ético exige apoyarse en sólidas razones, deliberativamente adoptadas en un entorno pluralista, respetuoso de la diversidad de visiones y, por tanto, universalizables y defendibles públicamente.

La reflexión sobre desacuerdos éticos y bioéticos planteada por los avances en las ciencias biológicas y biotecnologías ofrece una oportunidad de orientar el futuro, dirigiéndolo al beneficio de los «ciudadanos del mundo», parafraseando a la bioeticista española Adela Cortina (1997). En tal cometido, la Declaración Universal de Bioética y Derechos Humanos (UNESCO, 2005) constituye un instrumento de trascendental relevancia, pues a la par de reconocer la importancia de la libertad de investigación científica y las repercusiones beneficiosas del desarrollo científico y tecnológico, destaca la necesidad de que se realicen en el marco de los principios éticos que enuncia. Entre ellos, destacamos el que refiere al respeto a la dignidad humana, los derechos humanos y las libertades fundamentales (art. 3), en tanto los restantes —vgr., el respeto a la autonomía y a la asunción de responsabilidad en las decisiones personales (art. 5); la exigencia de consentimiento libre, previo e informado, y protección hacia las personas imposibilitadas de darlo (arts. 6 y 7); respeto a la igualdad de las personas, y trato justo y equitativo (art. 10), etc.—, se desprenden de su desarrollo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGEL, S.** (2017). La agrobiodiversidad como tema bioético. *Revista Redbioética/UNESCO*, 1(15), 17-26. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000262844>
- BOSTROM, N.** (2003). *The Transhumanist FAQ. A General Introduction*. World Transhumanist Association. <http://www.nickbostrom.com/views/transhumanist.pdf>
- CAPUTTO, M.C.** (2018). Avance biotecnológico... ¿retroceso ético? *Revista Binacional Brasil-Argentina: Diálogo Entre As Ciências*, 7(2), 97-115. <https://periodicos2.uesb.br/index.php/rbba/article/view/4640>
- CHARTIER, M.E.; TROMBERT, A.R.** (2013). Intersecciones Bio-éticas: entre Saber y Discurso. *Revista Binacional Brasil-Argentina: Diálogo Entre As Ciências*, 2(1), 35-50. <https://periodicos2.uesb.br/index.php/rbba/article/view/1356>
- CORREA SOARES, B.E.** (2003). Aspectos éticos del entendimiento público de la biotecnología. *Acta Bioethica*, 9(1), 63-67.
- CORTINA, A.** (1997). *Ciudadanos del mundo. Hacia una teoría de la ciudadanía*. Alianza Editorial.
- LOLAS STEPKE, F.** (2010). Biotecnologías y éticas: Con especial referencia a la ingeniería genética. *Atenea*, 502, 13-24.
- MAINETTI, J.A.** (2008). El complejo Bioético: Pigmalión, Narciso y Knock. *Revista Latinoamericana de Bioética*, 8(2), 30-37. <http://www.scielo.org.co/pdf/rlb/v8n2/v8n2a04.pdf>
- MARTÍNEZ TORREMOCHA, O.M.** (2004). Aspectos éticos y jurídicos de la biotecnología. Especial referencia a la clonación y a la reproducción asistida. *Eúphoros*, (7), 293-316. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1973663>
- JUNGES, J.R.** (2015). Bioética Ambiental. En *Manual de Bioética para Periodistas* (pp. 251-274). RedBioética/UNESCO (Oficina de Montevideo para América Latina y el Caribe). <https://redbioetica.com.ar/manual-de-bioetica-para-periodistas/>
- OECD: ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT.** (2005). *A framework for Biotechnology Statistics*. <http://www.oecd.org/dataoecd/5/48/34935605.pdf>
- PFEIFFER, M.L.** (2015). La relación entre biotecnología y progreso como «valores indiscutidos». Sus implicancias éticas y políticas. *Revista Grafía*, 12(2), 24-49.
- REICH, W.** (1978). *Enciclopedia Bioética*. Georgetown University.

- SOLBAKK, H.; COX, S.; BERNABÉ, R.; VIDAL, S.M.** (2021). Covid-19, Comedy and Crimes against humanity. *European Association of Centres of Medical Ethics Newsletter*, 57.
- SOLINÍS, G.** (Comp. y Ed.) (2015). *¿Por qué una Bioética Global? Vigésimo aniversario del Programa de Bioética de la UNESCO*. UNESCO.
- VIDAL, S.** (2013). Bioética y Desarrollo Humano. *Revista ACTIO*, 15, 43-79.
http://actio.fhuce.edu.uy/images/Textos/15/Actio15_Vidal_vf.pdf

13 El arte de compartir el saber científico: publicación y divulgación

MARÍA ALEJANDRA CARDOZO

Los ciudadanos necesitan tener unos conocimientos básicos de las cuestiones científicas, de modo que puedan tomar decisiones informadas y no depender únicamente de los expertos.

STEPHEN W. HAWKING

INTRODUCCIÓN

La comunicación científica es el mecanismo básico necesario para la existencia y el desarrollo de la ciencia. Es primordial que se realice de manera adecuada y comprensible para toda la comunidad científica, aunque muchas veces no es una tarea fácil. Podemos definirla como el proceso de presentación, distribución y recepción de la información científica en la sociedad. En un sentido más práctico podemos redefinirla como el estudio de cómo los académicos de cualquier campo utilizan y difunden la información a través de canales formales e informales. Aunque nunca lo hayamos pensado, la comunicación científica es un fenómeno social, una necesidad humana y un servicio público. Sin la comunicación científica no se podrían transmitir todos los avances y descubrimientos diarios del quehacer científico. ¿Cuál es el porqué de la necesidad de comunicar todos los experimentos científicos? Comunicamos los resultados de las investigaciones, los descubrimientos, las aportaciones, teóricas o experimentales, y los avances de cada disciplina, de modo que los mismos puedan ser conocidos, debatidos y aplicados posteriormente. Lo mismo que una señal de cualquier naturaleza resulta inútil mientras no se perciba, un artículo científico publicado (señal) resulta inútil si no es recibido y entendido por el público al que se destina. Por ello, se puede decir que un experimento científico no está completo hasta que sus resultados se hayan publicado y entendido (figura 13.1).

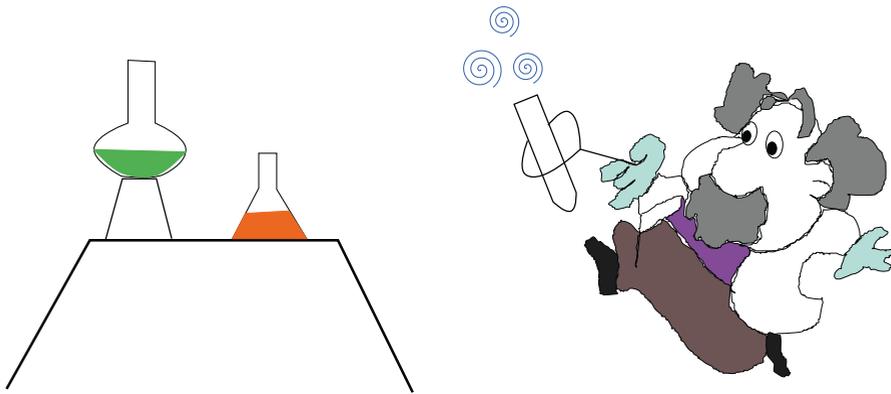


Figura 13.1. El trabajo científico

LA REVISTA CIENTÍFICA

Si hacemos un poco de historia, las investigaciones se difundían solo en forma de libro, pero al empezar a desarrollarse velozmente la ciencia este dejó de ser un medio eficaz porque cuando se lograba editar un libro ya se habían producido muchos más descubrimientos e investigaciones. A partir del siglo XVII aparecieron las cartas entre científicos como vehículo de comunicación, pero naturalmente cuando el número de científicos fue aumentando se hizo necesario otra vía de comunicación entre ellos. Surgieron entonces los congresos y reuniones científicas, pero sobre todo fueron los artículos científicos publicados en revistas científicas el canal que todavía hoy es el principal medio de comunicación de información científica.

Las revistas científicas son el principal medio de comunicación científica

Hoy en día, a los científicos se les juzga y se les conoce por sus publicaciones. Un experimento científico, por espectaculares que sean sus resultados, no termina hasta que esos resultados se publican. La ciencia considera que las investigaciones originales tienen que publicarse; solo así pueden verificarse los nuevos conocimientos científicos (figura 13.2).

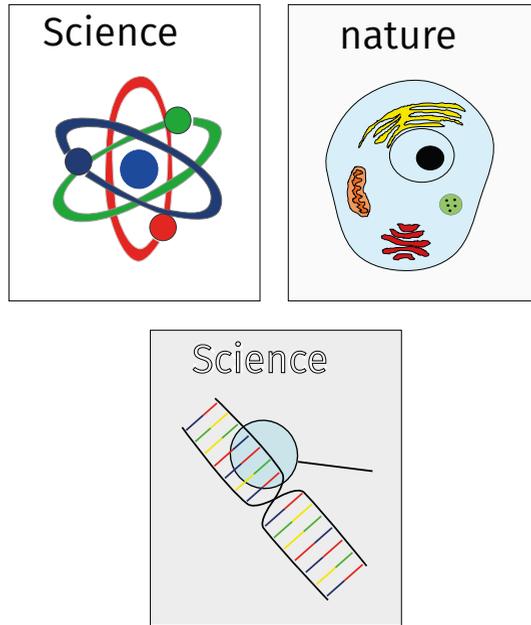


Figura 13.2. Revistas científicas

Los seres humanos han sido capaces de comunicarse desde hace milenios. Sin embargo, la comunicación científica, tal como hoy la conocemos, es relativamente nueva. Las primeras revistas científicas se publicaron hace solo 300 años, y la organización del artículo científico se ha creado en los últimos 100 años. Podemos afirmar que los principios de la comunicación científica no han cambiado mucho, a pesar de los cambios tecnológicos. Las revistas científicas son el centro de un ciclo de información en cuyo inicio y final están científicos e investigadores y, entre ambos, organizando, estructurando y responsabilizándose del proceso de revisión científica, los editores (figura 13.3).



Figura 13.3. Funciones de las revistas científicas

Las revistas científicas cumplen varias funciones en el quehacer científico donde cabe destacar *la validación*. Nos referimos a que la autenticidad de los trabajos de investigación está otorgada por el hecho de que una investigación aparezca en una revista de prestigio mediante el cribado que surge de la evaluación llevada a cabo por miembros del consejo de redacción, lo que garantiza la calidad intelectual del trabajo publicado. Los consejos de redacción de las revistas científicas deben estudiar cada trabajo que pretende ser publicado y tener en cuenta que los resultados de los trabajos supongan un progreso, y que además abran nuevas perspectivas de investigación además de evitar que se publiquen trabajos presentes en otras publicaciones, con títulos diferentes. Otra función de las revistas científicas es *archivar y almacenar información*, ya que son medio de preservación del patrimonio de la ciencia y elementos acumulativos que permite un crecimiento sobre los sucesivos progresos.

EL ARTÍCULO CIENTÍFICO

La investigación formal termina con la publicación de un artículo científico; solo así su contribución pasará a formar parte del conocimiento científico. Un artículo científico es un informe escrito y publicado que describe resultados originales de investigación.

Organización del artículo científico

Un artículo científico es un escrito organizado para satisfacer los requisitos exigidos de la publicación válida. Debe ser sumamente claro y organizado con unas partes componentes destacadas y diferenciadas. En las ciencias básicas, la forma más corriente de designar esas partes componentes es: Introducción, Métodos, Resultados y Discusión (de ahí la sigla IMRYD). La lógica del IMRYD puede definirse mediante una serie de preguntas: ¿Qué cuestión o problema se estudió? Se expone en la *Introducción* ¿Cómo se estudió el problema? La respuesta está en los *Métodos* ¿Cuáles fueron los resultados o hallazgos? La respuesta son los *Resultados* ¿Qué significan esos resultados? La respuesta es la *Discusión*. La lógica del IMRYD ayuda realmente al autor a organizar y escribir su texto, y ofrece una estructura clara para guiar los directores de revistas, los evaluadores y finalmente a los lectores en la lectura del artículo.

FORMAS DE COMUNICACIÓN CIENTÍFICA

De acuerdo con la forma de expresión en la comunicación se pueden distinguir las diversas formas de trabajo científico (tabla 13.1).

Tabla 13.1. Formas de comunicación científica

Presentación escrita	Presentación oral
Artículo científico. Artículo de revisión	Conferencias
Tesinas	Mesas redondas, coloquios
Póster	Comunicaciones a congresos
Notas breves de proyectos en curso	Sesiones divulgativas

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

La investigación y producción científica son dos procesos continuos que permiten al investigador lograr la difusión de los conocimientos a través de canales formales. En la actualidad, estamos inmersos en un proceso de evaluación de la producción científica que se ha hecho extensivo a la comunidad investigadora y a las instituciones. De él dependen las posibilidades de acceso y promoción profesional del personal investigador en los ámbitos académicos y científicos, y la financiación que reciben las instituciones para desarrollar los proyectos de investigación. Esos procesos de evaluación llevados a cabo por distintas agencias nacionales e internacionales se centran, entre otros aspectos, en la evaluación de la actividad investigadora difundida a través de las publicaciones científicas. La evaluación de la producción científica se basa en la evaluación de la calidad de los medios elegidos para su difusión (fundamentalmente las revistas científicas) y en determinadas áreas de conocimiento otros medios como los libros y capítulos de libros o las comunicaciones a congresos.

DE LA COMUNICACIÓN A LOS COLABORATORIOS

La posibilidad de los científicos de comunicarse entre continentes ha propiciado un aumento de la colaboración en los esfuerzos de investigación y de la labor académica a nivel global, con una mayor movilidad de investigadores y académicos. El enorme aumento hacia finales del siglo xx del número de artículos en colaboración es un indicador de esta situación. La

colaboración entre colegas es un desafío para la comunidad científica. La palabra «*colaboratorio*», fusión de «colaboración» y «laboratorio», ha sido acuñada para definir la combinación de tecnología, instrumentos e infraestructura que permite a los científicos trabajar con instalaciones remotas y con otros colegas como si estuvieran situados en el mismo lugar y con una comunicación de interfaz eficaz. Estos «centros sin paredes» están relacionados con un nuevo paradigma en la práctica de la ciencia que permite a los investigadores de cualquier campo tener fácil acceso a personas, datos, instrumentos y resultados.

LA COMUNICACIÓN PÚBLICA DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CPCYT)

Se entiende a la comunicación pública de la ciencia como el proceso que permite contextualizar y comprender las relaciones que existen entre prácticas tales como la producción del conocimiento científico, su repercusión en diversos ámbitos, el desarrollo tecnológico y las formas particulares con que este se incorpora a la sociedad; así como también el sentido que los actores sociales dan a estas relaciones en su práctica cotidiana, con la incorporación de sus saberes, prácticas y conocimientos. Más claramente, el concepto de «comunicación pública de la ciencia» abarca la suma de actividades de comunicación que poseen contenidos científicos destinados a públicos no especialistas en situación no cautiva. La misma no incluye la comunicación entre especialistas como tampoco incluye la enseñanza en sí misma. Es por ello que no debe confundirse la comunicación pública de la ciencia con la enseñanza, pues la misma no pone en marcha programas de disciplinas planificados en el tiempo que aseguren una adquisición progresiva y lógica de los conocimientos. Es necesario que entendamos que cuando hablamos de comunicación pública de la ciencia debemos tener en cuenta que ella involucra una combinación de ventajas considerablemente más populares que las propuestas por la educación formal: no es obligatoria, no se evalúa, no tiene horarios preestablecidos, programas específicos ni condiciones limitantes: se toma cuando, cuanto y donde se desee. La CPCYT convoca a la curiosidad y la creatividad haciendo especial énfasis en la libre voluntad de las personas. La comunicación pública de la ciencia en su término más conocido, divulgación de la ciencia, es un campo profesional en el que el rigor metodológico de la ciencia y la creatividad conviven con el propósito de ofrecer al público receptor el conocimiento científico al alcance de su interpretación para contribuir a la formación de una cultura científica en la sociedad. Practicar y comprender la comunicación pública de la ciencia impone comprender y profundizar previamente su materia prima: *la ciencia*. Entenderemos sus discursos y resultados como punto de partida de *mensajes*

por divulgar, sus *instituciones* como soportes y sus *recursos humanos* como socios posibles de esta comunicación entre especialistas y no especialistas. La misma es una actividad que ha crecido y se ha diversificado en las últimas décadas, en particular, debido a la necesidad imperiosa del conocimiento. Hoy en día podemos afirmar que en poco menos de una década se ha pasado de una relativa situación de indiferencia a convertirse en un punto de gran interés. Tanto es así que numerosos autores agregan a esta práctica una función vocacional, proponiendo a la divulgación científica como un modo posible de despertar vocaciones científicas. Poder conocer los factores que inciden en la vocación científica de algunos individuos podría dar nociones a cómo ayudar a estimular futuras vocaciones científicas y desde ese lugar poder fomentar la investigación y creación de conocimientos; donde al mismo tiempo la política científica pueda encontrar el camino más adecuado para optimizar la rentabilidad de la inversión pública. Así luego de entender la importancia de llevar la ciencia a todas las personas, podemos afirmar que nunca la ciencia ha estado más cerca de nosotros. ¿No te parece que nos ayuda a conocer y a conocernos? Divulgar se ha convertido en algo cotidiano, atractivo y muy necesario. Si el trabajo de la ciencia se percibe como algo cercano al ciudadano habrá más fuerza para reivindicarlo y defenderlo.

Comunicación y difusión: la divulgación científica

Se define «comunicación» como «acción y efecto de comunicar» y «comunicar», a hacer a otro partícipe de lo que uno sabe. Siempre que esa «cosa» que «uno sabe», y que transmite a otro, se refiera a la ciencia o a la tecnología, estaremos hablando de comunicación de la ciencia (figura 13.4).

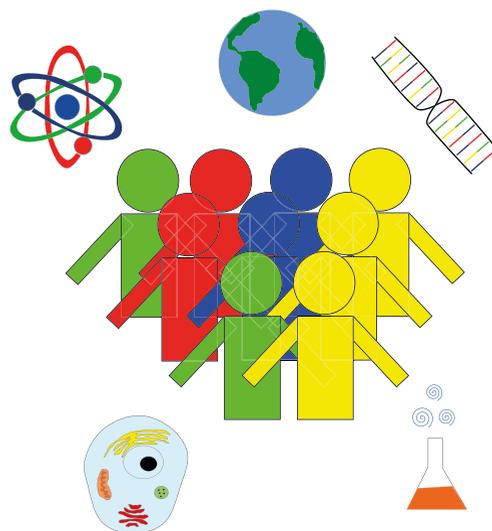


Figura 13.4. La divulgación científica

No importa quién sea el emisor, quién el receptor, cuál el canal o la forma del mensaje. En los congresos científicos, en conversaciones entre científicos, entre expertos, en publicaciones especializadas, en una entrevista hecha por un periodista a un científico, en un parte meteorológico, en un documental televisivo, en medios de comunicación de masas, en la escuela, en los museos. En todos estos casos y lugares, que tomamos solo a título de ejemplo, hay comunicación de la ciencia. Por otro lado, difundir, divulgar, popularizar ciencia, hacer periodismo científico son formas de comunicación de la ciencia. Ahora bien, cuando hablamos de *difusión* de la ciencia, hacemos referencia a la comunicación entre especialistas y colegas que expresan resultados y logros, proponen líneas de trabajo y buscan encuentros productivos entre múltiples disciplinas. Divulgar la ciencia es transmitir al público, en lenguaje accesible, descodificado, informaciones científicas y tecnológicas. Es decir, en otras palabras, la divulgación trata de poner a los no especialistas en situación de comprender un discurso científico «adaptándolo, simplificándolo y explicándolo» para favorecer la actualización de conocimiento del ciudadano contemporáneo. En esta era tan tecnológica y revolucionaria, cuando hablamos de comunicación podemos afirmar que miles de personas divulgan ciencia en innumerables redes bajo distintos formatos logrando el propósito final: que mucha gente se acerque a la ciencia. En este sentido es necesario entender que el papel que juegan los medios y las tecnologías hoy en día es muy diferente al que tenían en épocas pasadas en donde se gestaba la divulgación científica. El desarrollo de las redes, los miles de celulares con su tecnología cada día más avanzada son instrumentos de comunicación que permiten viabilizar la multiplicidad de posibilidades de interacción a distancia, y como si fuera un tornado la información se transmite velozmente de persona a persona. Es fundamental considerar la utilidad que tienen los medios electrónicos al respecto, en especial las redes sociales que han ido aumentando en popularidad y cantidad de usuarios. En resumen, los cambios que Internet ha propiciado son muy valiosos y la generación de redes sociales en el ciberespacio no queda aislada del tema de la divulgación científica.

Rol del divulgador científico ¿Por qué es necesario divulgar?

La sociedad actual puede definirse como una sociedad donde el conocimiento es el fundamento de su existencia. Es el conocimiento el que se encarga de empoderar no solo a los individuos, sino a todas las comunidades y a las naciones, y es el conocimiento el que definitivamente es capaz de generar un auténtico desarrollo social sustentable. Mientras los avances científicos y tecnológicos no sean palpables para la mayoría de los ciudadanos, será muy difícil conseguir una vinculación entre los individuos de la sociedad y los beneficios que surgen de los avances de la ciencia, del desarrollo tecnológico

y la innovación. Comunicar para existir se hizo imperativo para los diferentes actores económicos, políticos y científicos en la era de la sociedad de la información. Y la divulgación de la ciencia puede desempeñar un rol decisivo no solo generando cultura, sino motivando y mostrando a ciudadanos de todas las edades las maravillas de las ciencias y su atractivo como profesión. La divulgación es importante para los tres destinatarios involucrados. Para el *público*: es útil no solo por la explicación de las causas de los fenómenos naturales, sino para la resolución de problemas cotidianos. Para el *científico*, se convierte en el foro principal en el que se construye la percepción del público sobre la ciencia, su confiabilidad, su importancia y la necesidad de que se inviertan recursos en ella. Para el *divulgador*, que puede o no ser el mismo científico, es el instrumento ideal para servir de enlace entre los separados mundos de la ciencia y el público. El divulgador, es la persona que se interpone para traducir los trabajos científicos a la lengua popular con la intención de provocar interés, curiosidad y emoción ante las instituciones y hombres y mujeres.

Todo divulgador debe actuar con:

Responsabilidad. La primera responsabilidad del divulgador de ciencia es con la sociedad. Debe informar de lo que ocurre en los ámbitos de la ciencia, la tecnología, la salud y el medio ambiente según criterios de importancia e interés social.

Independencia. El periodista debe evitar convertirse en portavoz de cualquier parte interesada ya sean las empresas, las asociaciones y organizaciones no gubernamentales e incluso los propios científicos.

Pluralidad. La información que cuenta con una única fuente suele resultar incompleta. Es función del periodista ofrecer una información tan amplia como sea posible.

Honestidad. La objetividad no existe, pero el informador tiene que ser honesto en su trabajo para permitir a la audiencia formarse su propia opinión.

Verificación. Las afirmaciones unilaterales, incluso cuando han sido avaladas por publicaciones científicas, deben ser contrastadas con otras fuentes expertas.

Educación. La información debe ser comprensible y debe ir acompañada de elementos divulgativos que permitan a los receptores aumentar su conocimiento de los temas. Para ello debe utilizar todo tipo de recursos multimedia.

Firmeza. Los poderes políticos y económicos o sectores específicos de las instituciones intentan influir en los contenidos lo cual no debe tenerse en cuenta en la expresión de la divulgación.

Rigor científico. El periodista trabaja en la frontera de la ciencia, donde las cuestiones están aún sometidas a debate entre los propios científicos. Pero la confrontación de ideas no debe dejar hueco a la inclusión de datos o conceptos incorrectos. Para evitar errores, debe contar con fuentes rigurosas.

El artículo divulgativo: ¿cómo escribimos un artículo de divulgación?

Muy poca gente es capaz de entender la terminología, en ocasiones muy compleja, que se suele emplear en los artículos científicos. Poca gente entiende de análisis estadísticos y niveles de significancia. Es por este motivo que para que esta ciencia llegue a la ciudadanía los divulgadores utilizan el *artículo divulgativo*. Los artículos divulgativos se publican en revistas divulgativas, que son publicaciones periódicas que generalmente no someten los artículos a un proceso de arbitraje como ocurre con las revistas científicas. En estos casos, la decisión de aceptación o la edición final dependerá enteramente del grupo editor, que por lo general se reserva el derecho de modificar ligeramente el contenido para mejorar su comprensión sin alterar el mensaje. Este tipo de revistas no son tan especializadas como las revistas científicas, sino que suelen abarcar campos amplios de la ciencia, como la ecología y medio ambiente, la medicina, la biotecnología o las ciencias sociales. Cada revista establece el tipo de artículo que desea publicar: pueden ser notas breves, ensayos de temas de actualidad, reseñas bibliográficas o entrevistas a científicos destacados.

Estructura del manuscrito divulgativo

Los manuscritos de tipo divulgativo no tienen una estructura tan rígida como los artículos científicos, sino que dependerá en gran parte de la estructura de cada revista. En general son textos más breves, el lenguaje más sencillo, pero no debe de abandonar la rigurosidad científica. Debe de ser una lectura amena, por lo que los autores deberán utilizar un lenguaje fácil de entender y fluido, mostrando coherencia y cohesión en las ideas presentadas, tratando de no abusar de las frases subordinadas y recursos lingüísticos complejos, pero priorizando un lenguaje narrativo sobre uno meramente descriptivo. Un buen artículo de divulgación no solo debe reflejar los resultados de un proyecto científico sino también el proceso seguido por esta investigación y los argumentos que permitan al público general comprender el cometido social de su trabajo. En forma general se recomienda para la escritura de un artículo de divulgación tener en cuenta los siguientes ítems:

- Conocer el lector; público destinatario
- Identificar el canal en el que se va a divulgar
- Estar actualizado. Saber más de lo que se escribirá
- Seleccionar bien la información y ordenarla. Usar datos confiables
- Interesar al lector. Incluir novedades
- Usar frases y párrafos cortos
- Contextualizar y revisar bien el texto antes de publicarlo

Los artículos de divulgación no deben exponer posturas personales, participar de manera activa en caso de que el tema se preste a debate dentro de la comunidad científica, ni emitir juicios de valor. Deben brindar información de manera neutral para que el lector pueda formarse una opinión propia.

Tipos de medios de divulgación

Dentro de los tipos de medios de divulgación encontramos medios impresos, medios electrónicos, medios audiovisuales y otros medios (figura 13.5).

Medios impresos: comprende la divulgación de prensa escrita en:

- Revistas, diarios, carteles y folletos.
- Libros, cuentos
- Columnas periodísticas en medios gráficos.

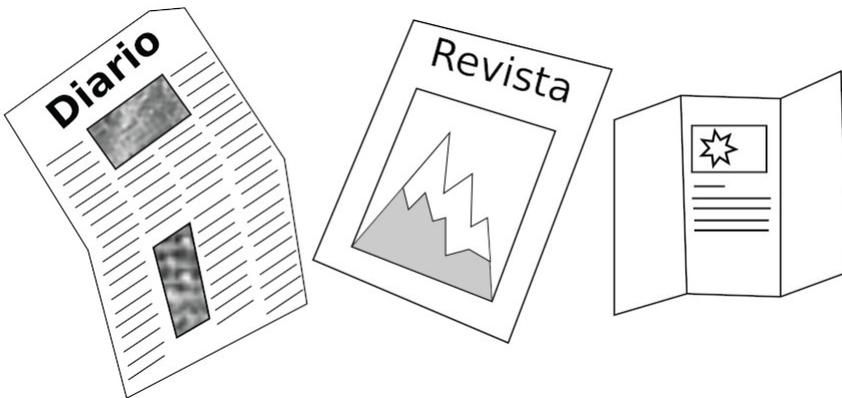


Figura 13.5. Medios impresos

Medios electrónicos: incluye entre otros:

- Boletín electrónico: su propósito es informar a los lectores de las actualizaciones de la página web y/o proporcionar información sobre el tema en que se centra el sitio web.
- Cuentas personales de investigadores o cuentas institucionales en redes sociales (Twitter, Instagram, etc.).
- Internet: en este punto tienen importancia las redes sociales académicas (ResearchGate, Academia.edu, etc.) como también las TICs (tecnologías de información y comunicación) foros, blogs, microblogging, podcasts, redes sociales, wikis, entornos de colaboración y contenidos multimedia (figura 13.6).

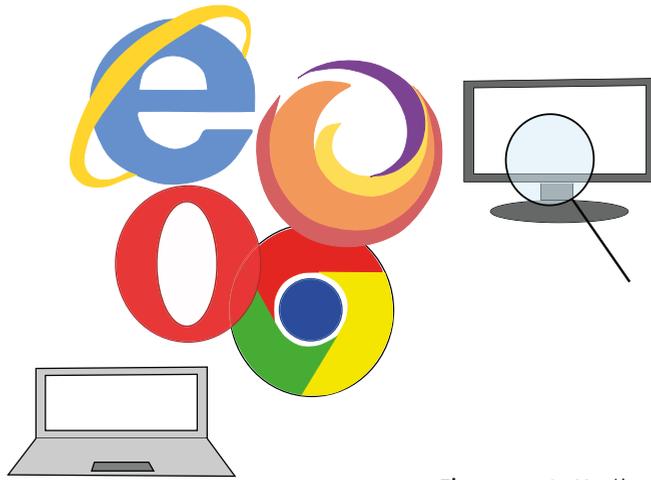


Figura 13.6. Medios electrónicos

El desarrollo tecnológico y la instantaneidad de la información no solo tienen un costo obvio que no puede ser afrontado por todos, sino que, además, únicamente puede llegar la gente cuando las condiciones son adecuadas (computadoras, conexiones apropiadas y espacios para la recepción). Por este motivo se utilizan otros medios que se detallan a continuación.

Medios audiovisuales:

- Televisión: para la transmisión y recepción de imágenes en movimiento y sonido a distancia, a través de documentales y programas de periodismo científico.
- Cine
- Obras de teatro
- Canales en YouTube y otras plataformas de video

Otros medios:

- Eventos virtuales y/o presenciales (Ej. «Días de Puertas Abiertas en los laboratorios de investigación», «La Noche de los Museos» que se celebra en todo el mundo).
- Museos de ciencia, planetarios, acuarios, centros culturales, granjas educativas, ecoparques y otros. La atractiva presentación de los contenidos en estos lugares hace que las visitas sean una actividad interesante, didáctica y adecuada para la familia o la escuela.
- Clubes científicos: son comunes en algunos países y pretenden ofrecer a los jóvenes otra forma de acercamiento a la ciencia, más activa, sin horarios ni exámenes. Su finalidad es poner en evidencia que la ciencia se practica y esta es otra forma de aprenderla.

EL PERIODISMO CIENTÍFICO

Es importante destacar el rol cada vez más creciente de los medios especializados en ciencia y las acciones de divulgación de institutos de investigación y asociaciones que se dedican a acercar la ciencia a los ciudadanos en un lenguaje sencillo y comprensible. Estos medios y comunicadores están afianzando un periodismo científico especializado y profundo y hablan asiduamente de biotecnología:

- Agencias científicas de noticias: Agencia cyTA del Instituto Leloir. (www.agenciacyta.org.ar)
- Secciones de divulgación y noticias de los sitios de Internet de institutos de investigación y universidades: CONICET (www.conicet.gov.ar), Instituto de Biología Molecular de Rosario (www.ibr.gov.ar), Universidad del Litoral (www.unl.edu.ar) Agronomía Informa (FAUBA) (www.agro.uba.ar), entre otros.
- Ciclos y eventos de divulgación científica de ciertas instituciones: «Día de puertas abiertas» del Instituto Leloir, la «Semana Nacional de las Ciencias» del CONICET.
- Revistas y boletines informativos especializados: *Revista RIA* - INTA (www.ria.inta.gob.ar), *Saber Cómo* - INTI (www.argentina.gob.ar/inti), *Novedades* (www.argenbio.org).
- Divulgadores Redes que nuclean a periodistas científicos (Ej. Red Argentina de Periodismo Científico y la Asociación Colombiana de Periodismo Científico).

CONCLUSIONES

Desde la comunidad científica es importante diseñar futuras investigaciones que involucren todos los elementos de la cadena del conocimiento: investigadores, educadores, divulgadores, medios informativos y sistemas de comunicación pública de la ciencia y la tecnología. La comunicación pública de la ciencia es una responsabilidad social de las universidades y casas de estudio, y está entre sus deberes constitucionales el realizar productos y actividades concretas cuya intención principal sea la de construir una cultura científica de planeación social y prevención de riesgos, que contribuyan a incorporar efectivamente el conocimiento científico a la práctica cotidiana y al quehacer colectivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DAY R.A.** (2005). *Como escribir y publicar trabajos científicos*. Organización Panamericana de la Salud.
- DAY R.A.; GASTEL B.** (2008). *Como escribir y publicar trabajos científicos*. Organización Panamericana de la Salud.
- ESTRADA, J.C** (2011). Educación y divulgación de la ciencia: tendiendo puentes hacia la alfabetización científica. *Revista Eureka sobre Enseñanza y divulgación de las ciencias*, 8(2), 137148.
- RODRÍGUEZ, A.E.** (2012). *La comunicación pública de la ciencia y su rol como estímulo en la vocación científica*. Tesis. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- BAYO, I.F** (2008). *La comunidad científica ante los medios de comunicación. Guía de actuación para la divulgación de la ciencia*. Universidad Complutense de Madrid.

14 Transferencia del conocimiento científico de la universidad al medio

MARÍA VICTORIA LUQUE

INTRODUCCIÓN

Es evidente que por sí solo el simple hecho de la creación de conocimiento científico no es suficiente para que la investigación y desarrollo (I+D) se pueda transferir al medio y de esta forma, pueda aportar al crecimiento económico de un país o región. De ahí deriva la importancia de generar procesos adecuados y sólidos de transferencia del conocimiento. Es necesario que el ciclo se cierre permitiendo que los resultados lleguen y sean exitosamente aplicados en el sector industrial o en el medio socioproductivo.

La transferencia del conocimiento se basa en «sistemas y procesos por medio de los cuales las instituciones de investigación interactúan recíprocamente con las empresas, el sector público y otras organizaciones permitiendo que el conocimiento y la experiencia generada puedan ser aplicados en mejoras innovadoras, rentables y sociales» (Bayona y González, 2010).

Este proceso, tan importante para la sociedad, es el que permite que los resultados gestados en los laboratorios que se encuentran en universidades o centros de investigación y de la academia se puedan ver reflejados en el medio socioproductivo, generando de esta forma recursos económicos derivados de procesos de innovación y transferencia de conocimiento permitiendo el crecimiento económico.

Las universidades son actores que generan conocimiento, conocimiento que se produce tanto a través de la investigación básica como la investigación aplicada. Este conocimiento se extiende, no solo a nivel institucional sino también sobre toda la comunidad, creando oportunidades y desafíos locales, regionales, nacionales, e internacionales. De hecho, las instituciones de educación superior vienen desempeñando un papel significativo en el desarrollo de las nuevas tecnologías y nuevos conceptos y valores sociales que hoy se reflejan en avances en la calidad de vida. Actualmente, podríamos afirmar que es crítica la contribución a las nuevas aplicaciones industriales y sociales, como resultado de la investigación científica universitaria, que contribuyen al desarrollo económico (Macho–Stadler, 2010).

No obstante, aunque la academia, la publicación y divulgación a través de *papers* científicos sean eficaces para transferir conocimiento, para el logro de avances aplicados en una disciplina, y para conseguir mejoras en la calidad de vida en una economía basada en el conocimiento, han sido necesarios en la práctica nuevos métodos y procesos de transferencia desde las instituciones de educación superior hacia la sociedad en general y al tejido empresarial

de forma específica. La comercialización exige un conjunto de habilidades por las que, en general, no se distingue la comunidad científica, es por eso que contribuir al desarrollo de las mismas y asistir a los investigadores con estructuras de apoyo que permitan acercar a los distintos actores resulta fundamental para reducir las brechas que se podrían presentar al momento del acercamiento de partes. Dado que la transmisión de conocimiento científico ha demostrado ser una herramienta de gran utilidad para el avance de la sociedad, existe interés en los entes reguladores y en los responsables del diseño de las políticas de I+D para el desarrollo de herramientas que permitan impulsarla (Macho-Stadler, 2010).

TRANSFERENCIA DE CONOCIMIENTO CIENTÍFICO

El término de transferencia del conocimiento describe las acciones destinadas a transmitir el conocimiento, las habilidades y la propiedad intelectual de las universidades a las empresas u otros organismos que adopten la tecnología desarrollada. Para que se lleve a cabo esta transferencia es necesario la apropiación de este conocimiento. A menudo se le conoce como «la tercera misión» de la universidad, complementando las funciones tradicionales de la educación y de la investigación.

Si tuviésemos que describir cómo es este proceso de transferencia que se lleva a cabo de forma habitual, podríamos destacar los siguientes hitos que pueden desarrollarse (figura 14.1):

- Los desarrollos surgen de científicos investigadores, que dentro de instituciones de investigación basándose en formación académica, son los productores primarios del conocimiento o de la tecnología.
- Los administradores de la tecnología universitaria, son los que velan por los intereses de la Universidad y llevan a cabo las negociaciones pertinentes junto a las Oficinas de Transferencia Tecnológica (OTT) u Centro de Transferencia de Resultados de la Investigación (CETRI) o también denominadas Oficinas de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI), que surgen como intermediarios entre las distintas organizaciones y representan los intereses de ambas partes.
- Como resultado de estos desarrollos se pueden generar derechos de propiedad industrial (patentes, modelos de utilidad, entre otros), capacidades que permitan llevar adelante servicios especializados a través de acuerdos o proyectos conjuntos o también se pueden generar empresas de base tecnológica en el ámbito universitario, las llamadas *spin-offs*.
- Las empresas son quienes principalmente comercializan las tecnologías o conocimiento generado en este proceso de transferencia, sin embargo, no son las únicas, ya que la transferencia también puede realizarse a instituciones gubernamentales, por ejemplo.

UNIVERSIDAD Y CENTROS DE INVESTIGACIÓN

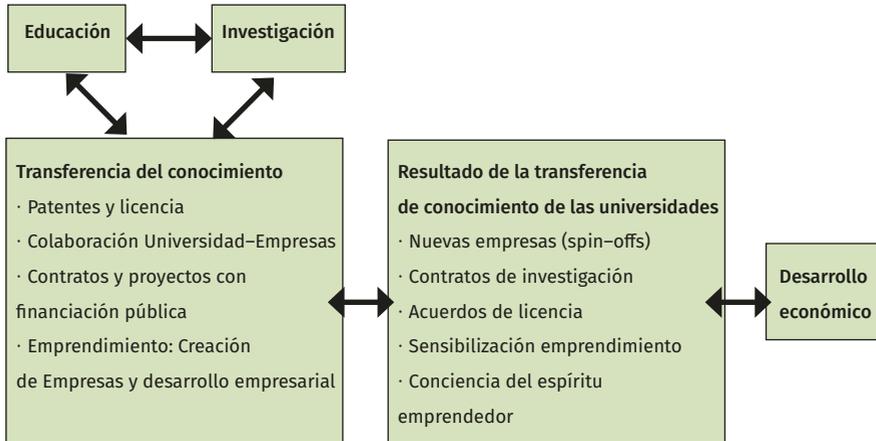


Figura 14.1. Proceso de transferencia del conocimiento (Adaptado de Bayona y González, 2010)

La transferencia del conocimiento se puede dar a través de licencias de patentes de invención o *know how*, materializada a través de un convenio, pudiendo también haber obtenido un financiamiento público o privado para llevarse adelante. A su vez, esa transferencia de conocimiento puede concretarse por medio de la creación de nuevas empresas de las cuales pueden participar los investigadores también.

Modelos de transferencia del conocimiento

La transferencia del conocimiento, como se ha mencionado anteriormente, es un proceso que ha ido variando y evolucionando a través del tiempo, que no necesariamente es el mismo proceso el que se lleva adelante en las distintas universidades o centros de investigación. Dependerá también del contexto propiciado por el estado, el acceso al financiamiento disponible y el ecosistema regional. A su vez, se puede observar la utilización de más de uno de los modelos, según el tipo de proyecto o desarrollo del que se trate. Es importante evaluar cuál es el más pertinente en cada caso y esto dependerá de varios factores tales como vínculo de los grupos de investigación con empresas, financiamiento disponible, motivación por emprender de los investigadores, cercanía con información o demandas del medio, ecosistema y entorno, entre otros.

Se podrían mencionar los siguientes modelos que representan los procesos de transferencia de conocimiento y su evolución.

Modelo lineal

Este modelo se trata de un proceso secuencial que se da de manera lineal pudiéndose describir en siete etapas (figura 14.2). Comenzando con un descubrimiento científico en el laboratorio, a partir de este momento el investigador o grupo de investigación deben declarar los resultados de la invención frente a la oficina de transferencia de tecnología (OTT) de la institución a la que pertenecen. Luego, esta oficina realizará una evaluación de la invención con el fin de analizar la posibilidad de protección de los resultados obtenidos por medio de una patente de invención u otro instrumento de propiedad industrial. En caso de ser factible, una vez redactada y presentada la patente de invención, la oficina de transferencia comienza a trabajar en el diseño de la estrategia de comercialización de la tecnología a través de la relación con una empresa u otra institución potencialmente adoptante. Este paso involucra la negociación comercial y la construcción del acuerdo de licencia en caso de llevarse delante de forma exitosa la transferencia (Siegel et. Al 2004).

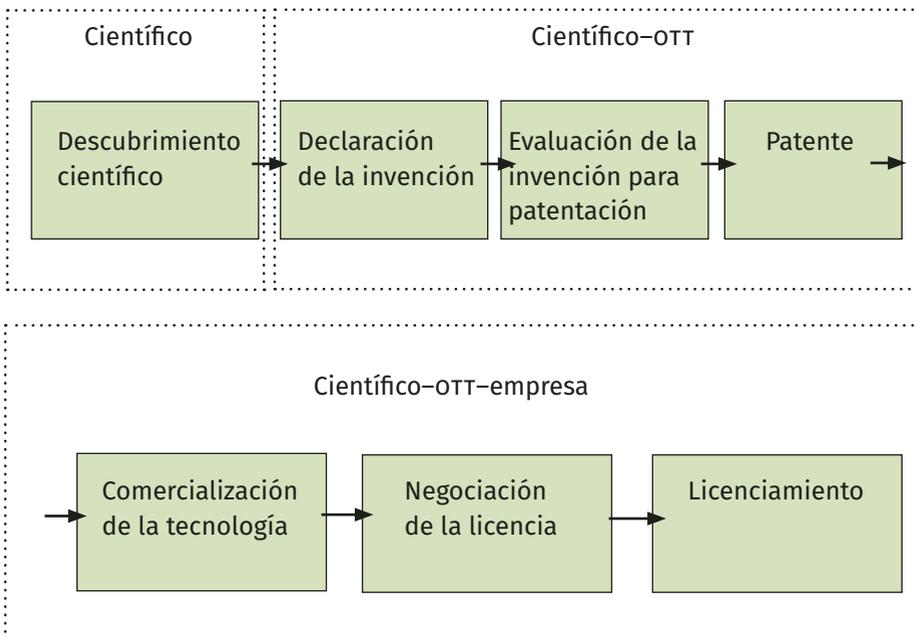


Figura 14.2. Modelo lineal de transferencia de conocimiento

En este modelo se puede observar la secuencia en la que los científicos generan el conocimiento, luego la OTT lo analiza y realiza las negociaciones pertinentes para el licenciamiento de la tecnología.

Modelo dinámico

Este modelo si bien está basado en el modelo lineal, es una reformulación evolucionada del mismo, con un análisis mucho más profundo, donde se puede ver el valor de la protección de los resultados a través de la generación de patentes, así como la importancia de la comunicación efectiva a los potenciales interesados para lograr la llegada exitosa al mercado de la invención.

Representa un sistema de transferencia del conocimiento más organizado e interactivo. Se basa en una organización que contempla sistemas de incentivos a los científicos que permiten la motivación necesaria para llevar adelante un proceso de transferencia (como ser la consideración de los hitos de transferencia en la evaluación en la carrera de investigación, en los incentivos docentes, financiamientos específicos para generar nexos entre grupos de I+D con empresas, recursos para redacción y presentación de patentes por mencionar algunos), con el acompañamiento de las oficinas de transferencia en el proceso (figura 14.3).

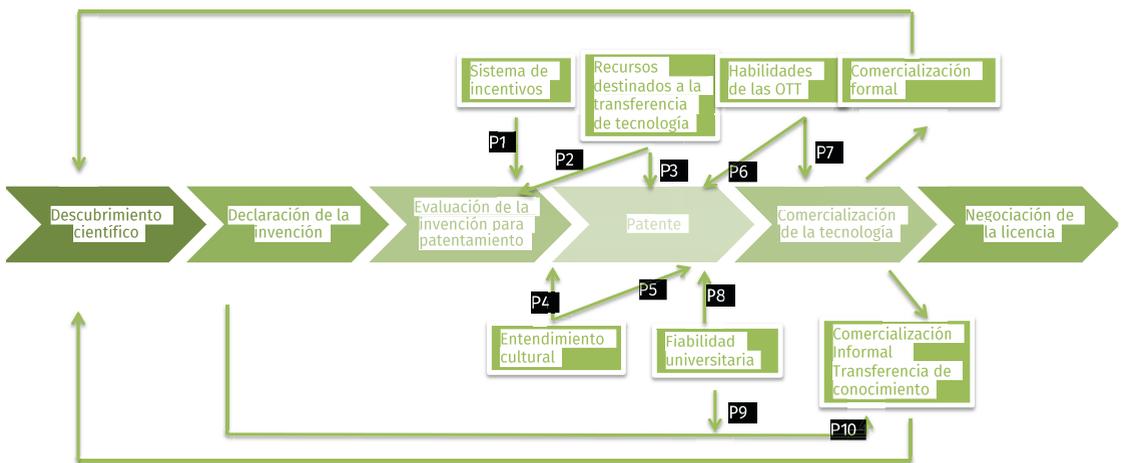


Figura 14.3. Representación del proceso dinámico de transferencia del conocimiento

Modelo triple hélice

Otro de los modelos que se pueden observar en transferencia de conocimiento es el llamado triple hélice, donde los actores participantes están representados por la triada Universidad-Empresa-Estado.

En la aplicación de este modelo de transferencia de conocimiento lo que se busca es que estos tres actores logren una visión integradora, generando una alianza de participación dinámica, conjunta y comprometida a fin de lograr procesos de innovación exitosos, generando sinergia entre el gobierno, el sector productivo y el sector académico/científico.

Este modelo muestra a la universidad como generadora de conocimiento, la empresa como lugar de producción y el estado como financiador y regulador del sistema (Etzkowitz & Etzkowitz, 2009). Se propone disminuir de forma gradual la brecha y diferencias que puedan surgir entre disciplinas y conocimientos (Castillo, 2010).

En el marco de este modelo existe una relación directa de ida y vuelta entre cada uno de los actores como se puede observar en la figura 14.4.

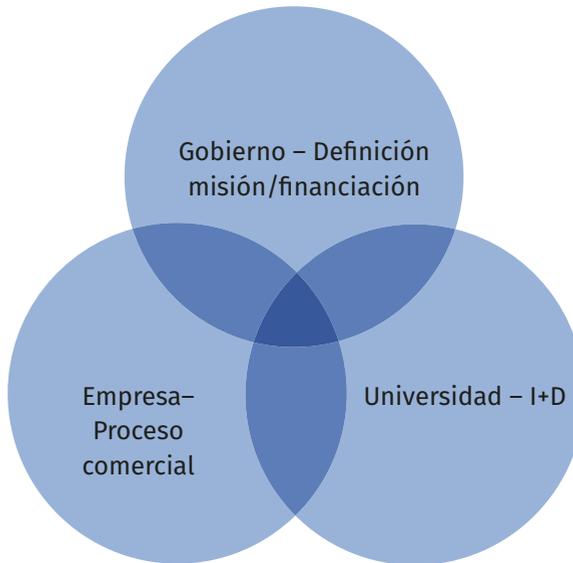


Figura 14.4. Representación del modelo de triple hélice

Modelo catch up

Modelo basado en la imitación y captación de tecnología ya creada con anterioridad. Se trata de «copiar» o imitar tecnologías existentes, pudiendo introducir o no determinadas modificaciones, siempre dentro de los límites de las regulaciones que permitan las leyes de propiedad industrial. Este modelo enfatiza la movilización del conocimiento tácito como medio para absorber las tecnologías foráneas y desarrollar las propias.

La importancia de este modelo radica en la utilización de información disponible con el fin de adaptarla y aplicarla en el medio socioproductivo para que se logre la adopción de la tecnología teniendo un rol muy relevante el sistema científico para poder llevarlo adelante. La información que otorgan muchas veces las patentes de invención que no se encuentran presentada en todos los países permiten el acceso a desarrollos que se pueden imitar, ya que su protección es territorial. También a través de este modelo se pueden reflejar los nuevos usos de tecnologías previamente desarrolladas.

En conclusión, los modelos teóricos descritos anteriormente son los más relevantes que se conocen y utilizan para generar la transferencia del conocimiento diferenciándose por las etapas del proceso de transferencia y los actores que están involucrados en cada una de ellas. Como se menciona, son simplificaciones teóricas con el objeto de representar un proceso complejo, dinámico e interactivo que se produce, donde muchas veces no se llega al resultado esperado de la transferencia del conocimiento.

Además, es relevante indicar que las OTT no utilizan un único modelo, sino que, atendiendo a las características y necesidades propias de cada desarrollo se diseña a medida una estrategia de transferencia. Siendo todos estos modelos son igual de válidos para recurrir a la llegada de una invención hasta la transferencia de los resultados, comercialización y generación de beneficio en el proceso.

Valle de la muerte

Si hablamos de transferencia del conocimiento no podemos dejar de mencionar que se trata de un proceso complejo con algunas vicisitudes. A pesar de que cierta bibliografía tradicional no lo indique de esta forma, es importante mencionar el término valle de la muerte (*valley of death*). Este término hace referencia a que las etapas de transferencia de conocimiento en general se encuentran con un momento determinado en el que no es fácil ni suave la transición que se puede dar entre los resultados generados en un laboratorio y aquellos que espera o necesita el sector industrial para aplicar la innovación en su planta (figura 14.5)

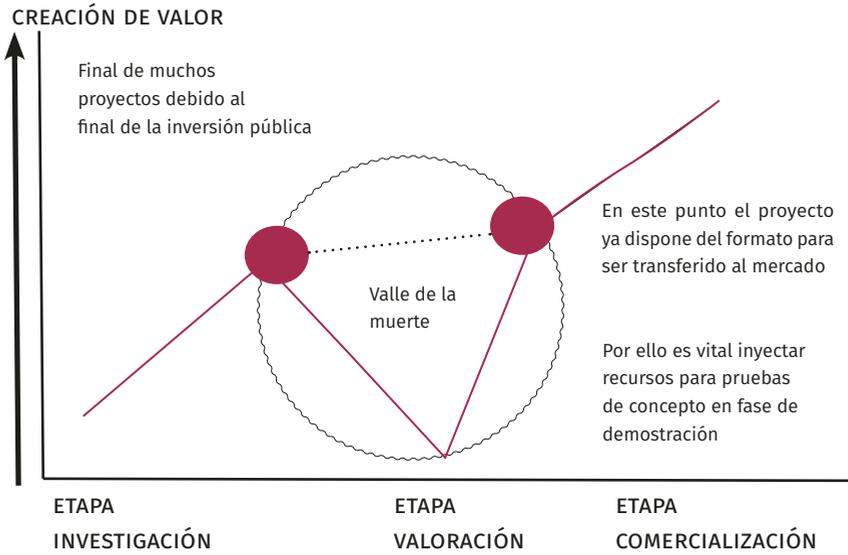


Figura 14.5. Representación del valle de la muerte

Si por ejemplo, pensamos en el proceso de desarrollo de un fármaco, este puede llevar más de doce años de desarrollo e investigación, considerando las validaciones, además de costar mucho dinero. Todo este proceso incluye una fase inicial de investigación, un proceso de validaciones preclínicas, validaciones clínicas, y posteriormente las fases de validación para comercialización, y luego la fármaco-vigilancia del mismo.

El esquema de transferencia puede basarse en cualquiera de los modelos expresados con anterioridad. De cualquier forma, en este caso, el «Valle de la muerte» se encontraría muy probablemente entre la validación preclínica y la fase de la validación clínica. En estas etapas del proceso los recursos que deben invertirse son muy importantes, no solo a nivel económico, sino también considerando el tiempo que conlleva realizarlo y el riesgo de que cualquiera de los puntos de validación falle es muy elevado. Es en estas instancias donde se necesita el mayor acompañamiento de las OTT y de fondos ya sean públicos o privados para poder llevar adelante estas instancias. De lo contrario, muchos de los desarrollos generados en los ámbitos universitarios no llegan a poder adoptarse de forma exitosa en el medio.

CADENA DE VALOR EN LA TRANSFERENCIA

La propiedad intelectual es un punto muy importante en el ámbito de la investigación científica, está íntimamente ligada al licenciamiento de las patentes y por tanto, a la transferencia de tecnología. De hecho, no es posible hablar sobre estrategias de protección de los resultados de una investigación sin contemplar su comercialización por medio del licenciamiento y/o transferencia de tecnología. A su vez, al momento de generar la licencia de la tecnología, es importante resaltar que en la gran mayoría de los casos no se trata de solo la patente, sino también de un acompañamiento y transmisión del *know how* desarrollado por el grupo de investigación a través de la implementación de la invención en la institución adoptante.

A menudo, no es suficiente con el patentamiento del desarrollo, sino que también es necesario que la universidad participe activamente en la demostración de la potencial utilidad de estas antes de que sean adoptadas por la empresa. Una de las vías para resolver este problema es la creación de las denominadas *spin-offs*. En este caso, la tecnología desarrollada en la universidad puede ser la base para la creación de una nueva empresa, donde los resultados generados son cedidos a esta nueva empresa bajo licencia en condiciones más favorables, pudiendo darse una participación en el capital o bien a cambio de regalías (*royalties*).

PROPIEDAD INTELECTUAL

La Propiedad Intelectual (PI) se relaciona con todas las *creaciones de la mente o el intelecto*.

A partir del concepto de propiedad intelectual surgen los llamados *Derechos de Propiedad Intelectual*, los cuales protegen los intereses de los innovadores y los creadores al ofrecerles privilegio en relación con sus creaciones.

Solo a modo indicativo los derechos de propiedad intelectual incluyen los siguientes:

- a. *La propiedad industrial*
 - 1. Patentes de invención
 - 2. Marcas
 - 3. Diseños industriales
 - 4. Indicaciones geográficas.
- b. *El derecho de autor*

Abarca las obras literarias (por ejemplo, las novelas, los poemas y las obras de teatro), las películas, la música, desarrollos de software, las obras artísticas (por ejemplo, dibujos, pinturas, fotografías y esculturas) y los diseños arquitectónicos.

Patente de invención

Enfocándonos en las patentes de invención que son los derechos que principalmente formarán parte de un proceso de transferencia del conocimiento podemos mencionar que una patente es un *derecho exclusivo concedido sobre una invención* de un producto o proceso que constituye una nueva manera de hacer algo, o propone una nueva solución técnica a un problema.

El titular de una patente goza de protección para su invención; la protección se concede durante un período limitado, que suele ser de 20 años. Una invención protegida por patente no puede ser fabricada, utilizada, distribuida ni vendida con fines comerciales sin el consentimiento del titular de la patente. Esta protección es territorial, por lo que debe presentarse la patente en todos aquellos países que desea obtenerse este derecho y luego de cumplido el plazo de 20 años la tecnología podrá ser fabricada, utilizada y comercializada sin impedimentos legales. Es importante mencionar también que para la concesión de una patente es necesario describir detalladamente la invención y ese documento será público.

En Argentina para poder ser otorgado un derecho de patente el producto o proceso debe cumplir con los siguientes 3 requisitos:

1. Novedad

La noción de novedad se contrapone con la de divulgación. Se considera novedosa toda invención que no esté comprendida en el estado de la técnica (conjunto de conocimientos técnicos que se han hechos públicos hasta el momento).

2. Altura inventiva

Para que un desarrollo tenga actividad inventiva no debe deducirse del estado de la técnica en forma evidente por una persona normalmente versada en la correspondiente materia técnica. El desarrollo no debe poder deducirse de un documento en particular, ni de la combinación de varios documentos pertenecientes al estado de la técnica.

3. Aplicación industrial

Una invención será considerada como susceptible de aplicación industrial si puede reproducirse o utilizarse en cualquier campo de la industria.

CREACIÓN DE EMPRESAS

Las invenciones generadas en las universidades en pocas ocasiones son desarrolladas y llegan al mercado simplemente con ser protegidas por medio de patentes. A menudo es necesario que la universidad participe activamente en la demostración su potencial utilidad antes de que sean adoptadas por la empresa. Una de las vías para resolver este problema es la creación de *spin-offs*.

Se denomina *spin-offs* a aquellas empresas que surgen de las propias universidades y tienen por objetivo la comercialización de la propiedad intelectual y la transferencia de la tecnología desarrollada en las instituciones académicas siendo en varias de las ocasiones incubadas en los mismos establecimientos (Djokovic y Souitaris, 2007).

Por mencionar algunas de las ventajas que tienen estas empresas, podríamos decir que son los propios investigadores que ocupando el rol de empresarios podrán seguir desarrollando la tecnología que gestaron en la universidad hasta el nivel de producto final, contratando nuevo personal científico valioso para ello y obtener rendimientos económicos. De esta forma también muchas veces se pueden reducir algunos riesgos de la innovación aminorando el impacto que pueda tener el valle de la muerte. Por su parte la universidad también acompañará el desarrollo de esta empresa y podrá recibir retornos económicos por contratos de transferencia con las *spin-off*, los cuales podrán utilizarse para incentivar nuevos procesos de transferencia.

A su vez, la sociedad podrá beneficiarse por los puestos de trabajos generados, no solo en áreas de I+D sino también en áreas de apoyo que son necesarias para consolidar un equipo interdisciplinario que logre una empresa exitosa y rentable.

No siempre es posible esta forma de contribuir al proceso de transferencia ya es necesario el interés de los inventores de la tecnología para llevarlo a cabo, además de contar con estructuras universitarias que lo permitan y acompañen, los recursos necesarios para poder montar una empresa entre otros factores claves para que pueda llevarse adelante.

CONCLUSIONES

Como se ha mencionado, el proceso de transferencia de conocimiento es complejo y se encuentra en constante evolución, las OTT han ido perfeccionando a fin de acompañar y simplificar este proceso y por medio de la protección de la tecnología y la posibilidad de creación de nuevas empresas se pueden ir registrando mejores resultados, permitiendo que la innovación desarrollada en el ámbito universitario pueda lograr un impacto positivo en el medio socioproductivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAYONA SÁEZ, C.; GONZÁLEZ ERANSUS, R.** (2010). *La transferencia de conocimiento en la Universidad Pública de Navarra: una visión desde la empresa y desde el ámbito universitario* (pp. 13–18). Ministerio de Industria, Turismo y Comercio y la Universidad Pública de Navarra.
- BERAZA GARMENDIA, J.M.; RODRÍGUEZ CASTELLANOS, A.** (2010). Factores determinantes de la utilización de las *spin-offs* como mecanismo de transferencia de conocimiento en las universidades. Universidad del País Vasco. *Revista Investigaciones Europeas de Dirección y Economía de la Empresa*, 16(2), 117–135.
- CASTILLO, H.G.C.** (2010). El modelo de la triple hélice como un medio para la vinculación entre la universidad y empresa. *Revista Nacional de Administración*, 1(1), 85–94.
- DJOKOVI, D.; SOUITARIS, V.** (2008). Spinouts from academic institutions: a literature review with suggestions for further research. *The Journal of Technology Transfer*, 33, 225–247.
- ETZKOWITZ, H.; KLOFSTEN, M.** (2005). The innovation region: toward a theory of knowledge-based regional development. *R & D Management*, 35, 243–255
- ETZKOWITZ, H.; LEYDESFORFF, L.** (2000). The dynamics of innovation: from National Systems and «Mode 2» to a Triple Helix of university–industry–government relations. *Research Policy*, 29(2), 109–123.
- ETZKOWITZ, H.** (2002). Networks of Innovation: Science, Technology and Development in the Triple Helix Era. *International Journal of Technology Management & Sustainable Development*, 1, 7–31.
- FAULKNER, W.; SENKER, J.** (1994) Making Sense of Diversity–Public–Private Sector Research Linkage in 3 Technologies. *Research Policy*, 23(6), 673–695.
- GENOVESI, M.; BASSO, S.** (2016). *Documento de diagnóstico: Propiedad intelectual y biotecnología* (pp. 14–85). Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, Buenos Aires.
- GUERRERO, M.; URBANO, D.** (2012). Transferencia de conocimiento y tecnología: Mejores prácticas en las universidades emprendedoras españolas. *Revista Gestión y Políticas Públicas*, 21(1), 110–117.
- MACHO-STADLER, I.** (2010). *Transferencia de las innovaciones Universitarias* (pp. 2–33). Universitat Pompeu Fabra. CREI.
- MANUKYAN MELKUMYAN, E.** (2017). *Análisis de herramientas para acelerar la transferencia de conocimiento científico* (pp. 7–12). Universidad de Valencia.

- MATO DE LA IGLESIA, S.; GOMEZ SAL, J.C.;... TEJERINA GARCIA, F.** (2018). *Transferencia del conocimiento: nuevo modelo para su prestigio e impulso* (pp. 24–36). CRUE. Universidades españolas, Santander Universidades.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE PROPIEDAD INTELECTUAL – OMPI** (2016). *Principios básicos de la propiedad industrial* (pp. 3–9). Publicación de la OMPI nro. 895(S).
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE PROPIEDAD INTELECTUAL – OMPI** (2013). *Las patentes como fuente de información tecnológica* (pp. 2–11). Publicación de la OMPI nro. L434/2(S).
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE PROPIEDAD INTELECTUAL – OMPI** (2010). *¿Qué es la propiedad intelectual?* (pp. 2–4). Publicación de la OMPI nro. 450(S).
- VARISCO, J.** (2014). *Patentabilidad de las invenciones biotecnológicas* (pp. 6–8). CETRI–Litoral. Secretaría de Vinculación Tecnológica y Desarrollo Productivo de la Universidad Nacional del Litoral.
- SIEGEL, D.; WALDMAN, D.; LINK, A.** (2003). Assessing the impact of organizational practices on the productivity of university technology transfer offices: an exploratory study. *Research Policy*, 32(1), 27–48.
- SIEGEL, D.; WALDMAN, D. Y LINK, A.** (2004). Toward a model of the effective transfer of scientific knowledge from academicians to practitioners: qualitative evidence from the commercialization of university technologies. *Journal of Engineering and Technology Management*, 21(1/2), 27–48.

Glosario

A

Ácidos nucleicos: macromoléculas presentes en todas las células y virus, cuyas funciones tienen que ver con el almacenamiento y la expresión de información genética.

Adyuvante: del latín *adjuvare*, «ayudar». Son moléculas que, al ser incorporadas a la formulación del antígeno vacunal, incrementan o modulan la respuesta inmune inducida por el organismo.

ADN (ácido desoxirribonucleico): ácido nucleico que contiene las instrucciones genéticas usadas en el desarrollo y funcionamiento de todos los organismos vivos y algunos virus; también es responsable de la transmisión hereditaria.

ADN recombinante: es una técnica que utiliza enzimas para cortar y unir fragmentos de ADN de distintas fuentes para lograr una molécula nueva con características diferentes.

Agente etiológico: microorganismo responsable de causar una enfermedad.

Antígeno: es cualquier sustancia que provoca que el sistema inmune reaccione y monte una respuesta de defensas contra él. Suelen ser moléculas «extrañas» al organismo, por ejemplo proteínas estructurales de un microorganismo como una bacteria, parásito, hongo o virus.

Antisuero: también conocido como suero inmunológico, es el suero sanguíneo que contiene anticuerpos policlonales.

ARN (ácido ribonucleico): es un ácido nucleico formado por una cadena de ribonucleótidos, y desempeña diversas funciones, entre ellas, dirige las etapas intermedias de la síntesis proteica y regula la expresión génica.

ARN largo no codificante: es una molécula de ARN funcional, que a diferencia del ARN mensajero no se traduce en una proteína.

ARNm (ARN mensajero): es el ácido ribonucleico que transfiere el código genético procedente del ADN, determinando el orden en que se unirán los aminoácidos de una proteína y actuando como plantilla para la síntesis de dicha proteína.

B

BCR-ABL: es una mutación formada por la combinación de dos genes, conocidos como BCR y ABL, presente en pacientes con ciertos tipos de leucemia.

Biotecnología: según la OECDE la biotecnología es la utilización de los organismos biológicos y sus partes para elaborar bienes y servicios. Quien introdujo la palabra fue el ingeniero húngaro Karl Ereky en el año 1919, pero fue en la década de los 70 que se sentaron las bases de la biotecnología (ingeniería genética y anticuerpos monoclonales), influyendo sobre varios sectores

industriales, fundamentalmente los de la industria farmacéutica y la alimentaria.

Bioética: conceptualizada como el «estudio sistemático de la conducta humana en el campo de las ciencias biológicas y de la atención de la salud, en tanto que dicha conducta es examinada a la luz de los principios y valores morales» (Reich, Enciclopedia de Bioética), se atribuye la invención del neologismo al bioquímico y oncólogo norteamericano Van Ransselaer Potter quien publicó en el año 1971 un libro titulado «Bioética. Un puente hacia el futuro». La Bioética interpela la corrección moral de los usos del progreso científico y tecnológico, que hoy pasan por la edición genética, la degradación ambiental, el transhumanismo, etcétera.

Biopsia: procedimiento que se realiza para extraer una pequeña muestra de tejido o de células del cuerpo para su análisis en un laboratorio.

C

Calibradores: sustancia específica de concentración conocida que se usa para armar las curvas de calibrado, las cuales servirán para obtener la concentración de una molécula en la muestra estudiada.

Células neoplásicas: células que se multiplican a un ritmo superior a lo normal y dan origen a una masa anormal de tejido.

Cepa atenuada: es aquella cepa viral o bacteriana que ha sido debilitada, logrando reducir así su virulencia pero no así su inmunogenicidad o su capacidad de generar una respuesta inmune robusta.

Capa germinal: capa de células que se genera durante los procesos tempranos de diferenciación celular del cigoto y que está asociada a un determinado tipo de órgano o tejido. Existen 3 capas germinales: endodermo, mesodermo y ectodermo.

Clonado molecular: conjunto de métodos experimentales utilizados para para amplificar una secuencia concreta de ADN y lograr su copiado dentro de organismos receptores.

Convenio de Oviedo: la denominación completa de este acuerdo, impulsado por el Consejo de Europa y suscrito en Oviedo (España) en 1997, es «Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina». Su denominación da cuenta del noble objetivo tenido en cuenta por los Estados firmantes de este instrumento que cuenta con 38 artículos, de impedir el abuso del desarrollo tecnológico en lo que concierne a la biomedicina y proteger la dignidad y los derechos humanos. Presenta importantes principios y pautas procedimentales que han de regir la investigación con seres humanos, los trasplantes, consideraciones sobre el genoma humano, entre otros.

CRISPR-Cas9: tecnología que permite realizar edición de ADN, mediante cortes específicos del material genético usando una secuencia de ARN como guía.

D

Declaración de Helsinki: es una normativa elaborada por la Asociación Médica Mundial (AMM) y se considera una obra de referencia para determinar

la aceptabilidad ética de las investigaciones médicas con seres humanos, siendo consultada por los integrantes de los comités de ética, patrocinadores, investigadores y participantes en la investigación; invocándose de forma rutinaria. La Declaración de Helsinki de 1964 se ha enmendado siete veces (1975, 1983, 1989, 1996, 2000, 2008, 2013) y se le han agregado dos notas de clarificación (2002 y 2004).

Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos: esta Declaración Universal de la UNESCO fue aprobada por aclamación en la 33ª Sesión de la Conferencia General de la UNESCO realizada en París el 19 de octubre de 2005. La Declaración trata sobre las cuestiones éticas relacionadas con la medicina, las ciencias de la vida y las tecnologías conexas aplicadas a los seres humanos, teniendo en cuenta sus dimensiones sociales, éticas, jurídicas y ambientales. Por el hecho de inscribir la bioética en los derechos humanos internacionales y de garantizar el respeto por la vida de las personas, la Declaración reconoce la interrelación existente entre la ética y los derechos humanos en el terreno concreto de la bioética.

Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos: es un documento conformado por un preámbulo y 25 artículos dispuestos en 5 apartados que fue publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) en su 29ª sesión el 11 de noviembre de 1997. Fue aprobado por unanimidad por las setenta y siete delegaciones nacionales que estuvieron presentes. La declaración se opone a la clonación humana y al empleo de las

tecnologías sobre el genoma humano que afecten la dignidad humana.

Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos: esta Declaración fue adoptada por la Conferencia General de la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) el 16 de octubre de 2003. La Declaración parte de considerar el desarrollo creciente de información resultante del análisis de datos genéticos y proteómicos humanos y se propone velar por el respeto de la dignidad humana y la protección de los derechos humanos y las libertades fundamentales en la recolección, el tratamiento, la utilización y la conservación de los datos genéticos humanos, los datos proteómicos humanos y las muestras biológicas de las que esos datos provengan, atendiendo a los principios de igualdad, justicia y solidaridad.

Desolventización: proceso a través del cual la materia orgánica es separada de los solventes de extracción utilizados para la extracción del aceite.

Dímeros: consiste en dos subunidades estructuralmente similares denominadas monómeros unidos por enlaces que pueden ser fuertes o débiles.

DIVA: de su sigla en inglés «*differentiating infected from vaccinated animals*». Es una propiedad que poseen algunas vacunas que permite la diferenciación de animales vacunados e infectados.

Dormancia: en este contexto, estado donde las funciones metabólicas bacterianas son llevadas al mínimo, solo concentradas en sobrevivir largos períodos de tiempo.

E

ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas. Es una técnica de inmunoensayo en la cual una molécula inmovilizada se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color.

Especificidad: se define como la capacidad de un método para medir exacta y específicamente lo que se quiere medir, sin interferencias.

Estabilidad: porcentaje de degradación de un marcador desde que se obtiene la muestra hasta su análisis.

Espectrometría de masas: es una técnica de análisis que permite determinar la distribución de las moléculas de una sustancia en función de su masa y por lo tanto identificar los diferentes elementos químicos que forman un compuesto.

Estándares de ARN de alta y baja

expresión: sustancias específicas de concentración conocida de ARN, ya sea alta o baja.

G

GC (cromatografía gaseosa): técnica analítica empleada para determinar la composición de una mezcla de productos químicos. Utiliza diversos gases en su operación en función del analizador y del tipo de detector.

Gen: es una unidad de información en un locus de ADN que codifica un producto génico, ya sea proteínas o ARN.

H

HER2neu: proteína que participa en el desarrollo normal de las células. Algunos tipos de células cancerosas, como las del cáncer de mama, ovario, vejiga, páncreas y estómago, producen cantidades anormales del HER2/neu.

Hidrofílica: sustancia que tiene afinidad por el agua.

Hipotiroidismo: enfermedad que se caracteriza por la disminución de la actividad funcional de la glándula tiroidea y el descenso de secreción de hormonas tiroideas.

Homeostasis: conjunto de fenómenos de autorregulación, que conducen al mantenimiento de la constancia en la composición y propiedades del medio interno de un organismo.

I

Informe Belmont: en el año 1974 el Congreso de Estados Unidos de América (EUA) creó una comisión (National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Sciences) con el objetivo de establecer los criterios que debían guiar la investigación y experimentación con seres humanos. Dicha comisión trabajó durante cuatro años y su labor se publicó en el denominado Informe Belmont, en cuyo texto se identificaban los principios éticos básicos de respeto por las personas (autonomía), beneficencia y justicia.

In vitro: se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo (por ejemplo, un cultivo de células).

In vivo: experimentación hecha dentro de un organismo vivo (por ejemplo, ensayos con animales y ensayos clínicos).

Isotipos de Ig: conjunto de variantes de inmunoglobulinas comunes a todos los miembros sanos de una determinada especie. En humanos se distinguen cinco isotipos según características de las porciones constantes de cadenas pesadas (IgG, IgA, IgM, IgD e IgE).

L

LC/MS (cromatografía líquida-espectrometría de masas): es una técnica de química analítica que combina las capacidades de separación física de la cromatografía líquida con las capacidades de análisis de masas de la espectrometría de masas.

Lenguaje compilado: lenguaje de programación que permite escribir programas que deben ser traducidos o compilados al lenguaje que emplean las computadoras para poder ser utilizado en una PC.

Levotiroxina (L-T₄): es una forma sintética de la tiroxina (hormona tiroidea), usada como un reemplazo hormonal en pacientes con hipotiroidismo.

Linaje: destino celular al que se encuentra dirigido un conjunto de células desde su estadio como progenitores hasta convertirse en células especializadas para un tejido y función particular.

Líneas de células plasmáticas: líneas celulares de un tipo único, que se han adaptado para crecer continuamente en el laboratorio, y pertenecen al sistema inmunitario y su papel consiste en la secreción de grandes cantidades de anticuerpos.

Linfocitos B: células especializadas del sistema inmune que juegan un papel importante en la respuesta humoral, el principal mecanismo de defensa contra patógenos que se replican fuera de la célula del huésped (patógenos extracelulares).

M

Marcador molecular: es un segmento de ADN con una ubicación específica en un cromosoma.

Metabolito: cualquier producto final de un proceso metabólico.

Micotoxinas: sustancias venenosas (en su mayoría pequeñas moléculas orgánicas) producidas por hongos.

microARN: es un ARN monocatenario, corto, que tiene la capacidad de regular la expresión de otros genes mediante diversos procesos.

microarreglos/arreglos: técnica que permite analizar diferentes tipos de muestras biológicas (tejidos, proteínas y material genético) y miles de moléculas de manera simultánea por ensayo.

Mieloma: tipo de cáncer que se forma en un tipo de glóbulo blanco denominado «célula plasmática».

Modificaciones epigenéticas: cambios en la expresión de los genes que son hereditarios y que no se pueden atribuir a alteraciones de la secuencia de ADN, por ejemplo, metilación del ADN y cambios en la expresión de microARNs.

Mutaciones: es una variación permanente del genoma, espontánea o inducida, en la secuencia de nucleótidos, o bien en la disposición del ADN en el genoma.

N

Nicho: microambiente especializado de un tejido que provee señales celulares, moleculares y químicas para regular los eventos de supervivencia, autorenovación y diferenciación.

Northern Blot (hibridación northern): técnica de detección de moléculas de ácido ribonucleico dentro de una mezcla compleja.

O

Oligonucleótidos: es una secuencia de ADN o ARN, generalmente menor a cincuenta pares de bases. En la PCR, se utilizan como iniciadores en las reacciones de amplificación.

Oncogen: gen alterado cuya expresión puede convertir una célula en cancerosa.

P

Patente de invención: derecho exclusivo concedido sobre una invención de un producto o proceso que constituye una nueva manera de hacer algo o propone una nueva solución técnica a un problema.

PAGE: técnica que logra la separación de proteínas en función del tamaño (masa molecular), lo que permite determinar

el peso molecular de las mismas e identificarlas.

Pautas CIOMS: el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) es responsable de la elaboración de las Pautas de 1982, 1993, 2002 y 2016, que se concibieron para una implementación práctica de la Declaración de Helsinki, proporcionando principios éticos aceptados a nivel internacional y comentarios detallados sobre la manera de aplicarlos en la investigación en entornos de escasos recursos. La última versión lleva el nombre de «Pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos».

PCR (reacción en cadena de la polimerasa): técnica que sirve para amplificar un fragmento de ADN.

Pleiotrópico: agente que puede producir diversos efectos según el tejido en el que se exprese y las condiciones del mismo.

Principialismo: refiere el término a la justificación moral por un conjunto cerrado de principios, y que se identifica con el modelo bioético de origen norteamericano de gran difusión a lo largo del planeta por su destacado pragmatismo. No obstante, se le ha criticado por responder a la tradición liberal individualista de EE. UU., contraria al sentido de la ética universalista de la posguerra.

Probióticos: producto o alimento que contiene microorganismos benéficos.

Proteínas: macromoléculas formadas por cadenas lineales de aminoácidos.

Proteína de fusión: proteína formada a partir de la traducción de dos o más genes independientes que se han unido

por un proceso natural o artificialmente en el laboratorio.

Protrombina 20210: la protrombina es un precursor de la trombina, factor importante en proceso de coagulación. Una mutación de un solo nucleótido en el gen de protrombina en la posición 20210 determina un aumento de la concentración plasmática de protrombina y mayor riesgo de problemas de coagulación.

R

Receptores de estrógeno: proteínas celulares que son activadas por la hormona denominada 17β -estradiol o estrógeno, permitiendo así la interacción de esos estrógenos con los mecanismos del metabolismo celular.

Receptores de progesterona: proteínas celulares que son activadas por la hormona denominada progesterona, permitiendo así la interacción de esos progestágenos con los mecanismos del metabolismo celular.

Recombinante: obtenido a partir de una especie o línea celular cuyo ADN fue modificado con un gen de interés.

RMN (resonancia magnética nuclear): modalidad de diagnóstico radiológico en la que los núcleos de los átomos de hidrógeno de un individuo se alinean en un campo magnético potente y uniforme, absorben energía y luego emiten señales. Estas señales se convierten en imágenes que se ven como cortes transversales del cuerpo del individuo.

S

SAGE (análisis seriado de expresión génica): permite conocer y cuantificar la expresión de los genes en la célula, mediante la medición de los ARNm que están presentes en esta en un momento determinado.

Secuencia: sucesión de letras representando la estructura de una molécula de ADN, ARN o proteína, con la capacidad de transportar información.

Secuenciación: 1) conjunto de métodos y técnicas bioquímicas cuya finalidad es la determinación del orden de los nucleótidos en un oligonucleótido de ADN o de los aminoácidos en una proteína; 2) proceso de obtención de los componentes y el orden en que los mismos aparecen en una secuencia.

En el caso de una proteína se obtienen los aminoácidos que la componen y el orden en que se encuentran unidos.

Sensibilidad: habilidad de un método de detectar cantidades mínimas de una sustancia.

Sistema inmunológico: defensa natural del cuerpo contra las infecciones, como las bacterias y los virus.

Sondas fluorescentes: oligonucleótidos especiales diseñados para aumentar la especificidad de la PCR. En uno de sus extremos, el oligonucleótido posee unida una molécula que fluoresce, y en el otro extremo un desactivador de fluorescencia.

spin-offs: empresas que surgen de universidades y tienen por objetivo la comercialización de la propiedad intelectual y la transferencia de la tecnología desarrollada en las instituciones académicas siendo en varias de las ocasiones incubadas en los mismos establecimientos.

T

Tirotrofina (TSH): hormona que estimula a la glándula tiroides.

Toxina: pequeñas moléculas, que pueden provenir de un microorganismo, capaces de generar una enfermedad.

Toxoides: es una toxina bacteriana que fue debilitada o inactivada por un tratamiento físico o químico.

U

«Una salud»: este es un término acuñado por la Organización Mundial de la Salud que busca generar conciencia en relación a la profunda interconexión que existe entre la salud de las personas, de los animales y del ambiente.

V

Variable: es una propiedad que puede tomar diferentes valores y cuya variación es susceptible de medirse u observarse (ejemplo: peso, altura, edad, etc.).

Vector viral: es un virus modificado por ingeniería genética para poder ser utilizado como vehículo de transferencia de material genético dentro de una célula.

Vector de expresión: plásmido o virus diseñado para la expresión génica en las células.

Vial: cualquier recipiente pequeño. En general hace referencia a recipientes de buena calidad.

VLPS: *Virus-like particle* o partículas pseudovirales. Son estructuras supramacromoleculares conformadas por proteínas estructurales de un virus, que poseen una forma y tamaño similar al de un virus, pero carentes de ácido nucleico en su interior.

Sobre las editoras, autoras y autores

MARÍA FLORENCIA ROSSETTI · Instituto de Salud y Ambiente del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Departamento de Bioquímica Clínica y Cuantitativa, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

ÁNGELA GUILLERMINA FORNO · Laboratorio de Cultivos Celulares. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / AMEGA Biotech SA Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

CAROLINA ATTALLAH · Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Instituto de Agrobiotecnología del Litoral. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

PATRICIA BURNS · Instituto de Lactología Industrial. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

JULIETA VIRGINIA CABELLO · Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Instituto de Agrobiotecnología del Litoral. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

MABEL CAMPI · Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Instituto de Agrobiotecnología del Litoral. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

LUISINA A. CAPPELLINO · Laboratorio de Desarrollo Biotecnológico. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Dirección actual: Institute for Neuroscience of Montpellier (INM), Univ. Montpellier, Inserm, Montpellier, Francia.

MARÍA CAROLINA CAPUTTO · Cátedras de Bioética y Ética Profesional de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

MARÍA ALEJANDRA CARDOZO · Departamento de Bioquímica Clínica y Cuantitativa, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

FRANCISCO COLOMBATTI · Molinos Agro. San Lorenzo, Prov. de Santa Fe, Argentina.

RAÚL NICOLÁS COMELLI · Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental. Departamento de Medio Ambiente. Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

ADRIANA FOLLONIER · Departamento de Bioquímica Clínica y Cuantitativa, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

DIEGO FONTANA · Laboratorio de Desarrollo Biotecnológico. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

ANTONELA FUSELLI · Laboratorio de Cultivos Celulares. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

LUISA GAYDOU · Instituto de Salud y Ambiente del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Departamento de Bioquímica Clínica y Cuantitativa, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

MATÍAS GERARD · Instituto de Investigación en Señales, Sistemas e Inteligencia Computacional (sinc(i)). Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

AGUSTINA GUGLIOTTA · Laboratorio de Desarrollo Biotecnológico. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

EMILIA HICK · Instituto de Lactología Industrial. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

MARÍA VICTORIA LUQUE · Oficina Vinculación Tecnológica. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

DIEGO MERCANTI · Instituto de Lactología Industrial. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

ANDRÉS MURIEL · PathoNext GmbH, Leipzig, Alemania.

CLAUDIO CÉSAR PRIETO · Laboratorio de Desarrollo Biotecnológico. Centro Biotecnológico del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

JESICA RAINERI · Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Instituto de Agrobiotecnología del Litoral. Universidad Nacional del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

JORGE GUILLERMO RAMOS · Instituto de Salud y Ambiente del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Departamento de Bioquímica Clínica y Cuantitativa, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

DELFINA RE · Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Entre Ríos. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Oro Verde, Prov. de Entre Ríos, Argentina.

IVANA GABRIELA REIDEL · Laboratorio de Inmunología Experimental, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Laboratorio del Dr. Ogembo, Departamento de Inmunología, Instituto Beckman, City of Hope, California, Estados Unidos.

MARCOS REYES · Instituto de Salud y Ambiente del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

ROMINA CECILIA RUSSI · Laboratorio de Inmunología Experimental Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. Laboratorio de Bioquímica e Inmunidad, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Mendoza, Prov. de Mendoza. Argentina.

ILEANA TOSSOLINI · Instituto de Agrobiotecnología del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Entre Ríos, Oro Verde, Prov. de Entre Ríos, Argentina.

ALEJANDRO RAÚL TROMBERT · Cátedras de Operaciones y Procesos Biotecnológicos, Bioética y Ética Profesional de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

MARÍA VIRGINIA TSCHOPP · Instituto de Salud y Ambiente del Litoral. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina / Cátedra de Fisiología Humana, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Prov. de Santa Fe, Argentina.

Durante el período en que duró la pandemia de Covid-19 pudimos visualizar que se ha hecho evidente la importancia de la Ciencia en general y de la Biotecnología en particular para lidiar con un enemigo devastador. Los científicos especializados en Biotecnología salieron a dar respuestas y soluciones urgentes para aminorar los efectos nefastos de la pandemia.

¿Qué es y por qué es tan importante la Biotecnología en nuestras vidas?

El concepto de Biotecnología es muy amplio e incluye a toda tecnología que utiliza seres vivos para producir un bien. Manejar, dominar e innovar en Biotecnología requiere de conocimientos en Biología, Bioquímica, Genética y otras disciplinas relacionadas.

¿Cuáles son los desafíos? Entre otros, generar mayor productividad agrícola con menor huella ambiental, generar más y mejores medicamentos, desarrollar métodos preventivos, de diagnóstico, reemplazar los productos tóxicos por bioproductos amigables con el ambiente y tantos otros que surgirán en el futuro cercano.

¿Cómo se generan esas soluciones? Empezando por hacer las preguntas básicas de la Biología e investigando a nivel fundamental cómo funcionan las cosas, qué mecanismos moleculares están en juego, qué genes participan, etcétera.

Responder a esas preguntas requiere indiscutiblemente de la aplicación del método científico: observación, hipótesis, experimentación, teoría. Hay una sola Ciencia, la que se hace bien siguiendo el método científico.