

Un nuevo avance de la ingeniería genética en el campo de la terapéutica médica

# El gen del factor VIII, proteína coagulante relacionada con la hemofilia, ha sido clonado

El año 1984 ha terminado con una buena noticia para los que han estado anunciando la importancia de las aplicaciones futuras de la ingeniería genética. El gen de una proteína de gran interés médico, el llamado factor VIII, ha sido clonado, es decir, introducido en bacterias e identificado y de esta forma ha podido ser estudiado. Pero además de esto, ha podido ser introducido en células de mamífero en cultivo, las cuales producen la proteína en forma activa. Las posibilidades que estos resultados abren para la corrección de una importante enfermedad hereditaria, la hemofilia, y el "tour de force" técnico que implican han causado una gran impresión y suscitado el lógico interés científico.

### Enormes dificultades

A primera vista los obstáculos para abordar esta cuestión mediante las técnicas de ingeniería genética eran enormes. Hasta ahora no se sabía casi nada del factor VIII, por ejemplo, se ignoraba en qué tejido del cuerpo se sintetizaba esta proteína aunque sí se sabía que se producía en proporciones muy pequeñas. Además se trataba de una proteína muy grande, de un peso molecular de 330.000, tamaño muy superior al que hasta el

momento se había estudiado mediante las técnicas de ingeniería genética. A posteriori se ha visto que el gen era enorme ya que se encuentra dividido en 26 fragmentos distintos representando un total de 186.000 pares de bases de DNA, lo cual corresponde a un 0,1 por ciento del cromosoma X humano. Con ello los estudios genéticos a nivel molecular comienzan a llegar a dimensiones que pueden observarse al microscopio.

La estrategia seguida por los dos grupos que han publicado de forma simultánea este trabajo, un grupo californiano en colaboración con el centro de la hemofilia de Londres y un grupo de Boston, en colaboración con el servicio de hematología de la famosa clínica Mayo, hace alarde como en todos estos casos del uso de muy diferentes técnicas de la bioquímica y la biología molecular.

### La genoteca

Por una parte se ha tenido que purificar la proteína y conocer algún pequeño fragmento de su secuencia. Posteriormente y a

partir de esta secuencia se han sintetizado químicamente fragmentos de DNA que pueden corresponder a pedazos del gen del factor VIII y con estos fragmentos se han buscado los genes en lo que se conoce como una biblioteca de genes o genoteca. Estas bibliotecas se construyen introduciendo fragmentos que representan el DNA entero de un organismo en un virus muy bien conocido, el virus lambda. Cada virus individual produce una placa de infección que contiene un fragmento del DNA del organismo y se puede suponer que el conjunto de estos virus contiene todos los genes. Buscar el gen correspondiente dentro de esta colección de placas víricas es hoy en día una técnica estándar aunque puede resultar compleja. Representa, por ejemplo, crecer y analizar varios centenares de miles de virus distintos.

En el caso del factor VIII uno de los grupos que han llevado a cabo el trabajo construyó su genoteca a partir del DNA de un individuo que poseía cuatro copias del cromosoma X en el que se sabe reside el gen de esta proteína. El experimento de aislar

el gen tuvo éxito y una vez obtenido éste los investigadores analizaron distintos tejidos y líneas celulares en cultivo para medir la síntesis del RNA mensajero correspondiente. Obtenido éste pudo secuenciarse el DNA y a partir de éste deducirse la secuencia de la proteína. El resultado es que el factor VIII representa una proteína de 2.332 aminoácidos, la mayor hasta ahora secuenciada por este método. Ni que decir tiene que manejar secuencias de DNA y de proteína de este calibre implica el uso de ordenadores. Estos han permitido también comparar la secuencia obtenida con la de otras proteínas ya conocidas y ello abre interesantes cuestiones evolutivas y funcionales ya que efectivamente han encontrado similitud de la secuencia del factor VIII con otras proteínas ya conocidas hasta la fecha.

### Resultados esperanzadores

Desde un punto de vista práctico el interés de este trabajo consiste en que el gen así conseguido ha podido ser introducido

en líneas celulares en cultivo. Utilizando vectores adecuados se han podido transformar células que han dado lugar a líneas en cultivo en las que se ha demostrado la producción del factor VIII. En estas células el factor VIII se sintetiza en pequeñas cantidades, pero posee las actividades típicas de este factor. Con ello se tiene un cultivo en el laboratorio del que se puede extraer tan importante proteína sin peligro de contaminaciones víricas procedentes del suero de los donantes. El uso clínico de este factor así producido deberá, desde luego, esperar los controles adecuados, lo cual puede durar varios años. Además hay que demostrar que puede producirse en cantidades suficientes en forma activa; pero los primeros resultados son desde luego esperanzadores.

### ¿Una tecnología sin límites?

Este trabajo representa también un éxito para los defensores de las pequeñas compañías de biotecnología que se han establecido principalmente en los

Estados Unidos. Muchas de éstas son compañías fundadas por científicos y con capital de riesgo. Una de las que ha conseguido la producción del factor VIII, la californiana Genentech, es una de las más famosas entre las de este tipo y ya se había destacado en trabajos precedentes. Junto a estas pequeñas compañías, las grandes firmas de la industria farmacéutica y química han ido creando también compañías dedicadas a este tipo de cuestiones lo que está promoviendo una enorme competitividad. Para el clonaje del factor VIII, Genentech ha empleado a más de 30 científicos que firman los tres artículos que se han publicado. Al parecer este trabajo se ha realizado en el tiempo récord de un año lo que hace todavía más impresionante el resultado. Indica también que en la actualidad para este tipo de trabajos de ingeniería genética pocas cuestiones parecen vedadas a la tecnología disponible y que se está desarrollando a velocidades vertiginosas. Por otra parte, es claro que difícilmente puede competir con grupos numerosos, decididos y que están respaldados fuertemente desde un punto de vista financiero.

PERE PUIGDOMENECH  
Instituto de Biología de Barcelona (CSIC)

## Una famosa enfermedad hereditaria

Cuando por una agresión de cualquier tipo se rompe un vaso sanguíneo, el organismo pone en marcha una serie de procesos que tienen como finalidad detener la hemorragia. Al conjunto de estos mecanismos se los denomina técnicamente hemostasia. En esencia el proceso de la hemostasia se desarrolla cronológicamente de la siguiente forma: En una primera fase se produce una contracción del vaso lesionado a la que sigue la formación de un depósito sobre la zona lesionada de un tapón de células sanguíneas, las plaquetas; en último término la sangre pierde su normal consistencia líquida pasando a una gelatinosa constituida por una malla de fibrina, que depositándose en la zona de la lesión determina su cierre permanente. El paso final de este proceder constituye la coagulación sanguínea.

### La coagulación

Centrémonos en el fenómeno de la coagulación. ¿Cuáles son los mecanismos determinantes de la pérdida de la normal consistencia líquida de la sangre al salirse del recipiente natural de los vasos sanguíneos y que tan prácticamente se comporta ante la hemorragia? Tras la aparente simplicidad del proceso se esconden una serie de reacciones encadenadas en las que participan un conjunto de moléculas (esencialmente proteínas) denominadas factores de la coagulación, cuya activación seriada culmina con la formación del elemento final: la fibrina, que depositándose localmente determina la detención de la hemorragia e inicia la fase reparadora de la herida. La puesta en marcha de esta reacción defensiva se produce en el hombre a través de dos vías.

Una, la denominada extrínseca, se inicia al descargarse en la

sangre un producto del tejido lesionado (factor III); la otra, o intrínseca, se dispara al activarse una molécula presente en la sangre (factor XII) por contacto con la superficie del vaso lesionado. A partir de aquí y de una forma automática ambas vías finalizan con la formación de las mallas de fibrina. La alteración congénita o adquirida de cualquiera de los elementos de control biológico de la hemorragia determinará una anormal tendencia al sangrado ante pequeñas agresiones.

### Un déficit innato

La hemofilia es la enfermedad congénita más habitual dentro de los trastornos de la coagulación. La base del desarreglo está constituida por un déficit innato de la actividad del factor VIII (hemofilia A) o del factor IX (hemofilia B). La hemofilia A es con mucho la más frecuente, constituyendo el 90 % de los casos. La enfermedad se transmite como un rasgo recesivo ligado al cromosoma femenino X, por ello las mujeres la transmiten pero no la sufren, siendo una enfermedad propia de varones.

Históricamente, el carácter congénito de la enfermedad probablemente deba su popularidad al conocido caso de la reina Victoria Eugenia de Inglaterra, cuya transmisión de la enfermedad afectó durante más de cien años a las familias reales de tres países europeos.

Afortunadamente la hemofilia no es una enfermedad muy frecuente, correspondiendo a nuestro país en términos estadísticos unos cuatro mil hemofílicos. La calificación de la enfermedad como grave, mediana o ligera está en relación al grado de actividad de factor de la coagulación deficitaria; así, en el caso de la hemofilia A, actividad

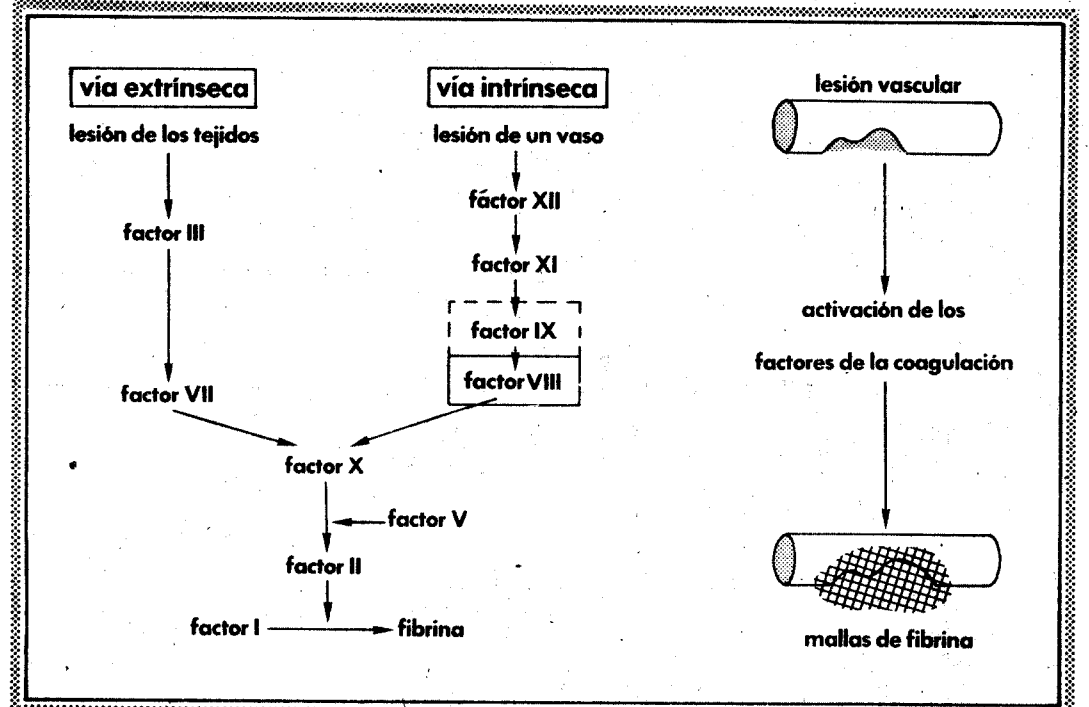
des inferiores al 1 % la califican como grave, mediana si es del 5-7 % y ligera si está comprendida entre el 12 y el 15 %.

### Consecuencias y tratamiento

Como es obvio, las manifestaciones básicas del enfermo hemofílico están constituidas por la tendencia a un sangrado anormal ante traumatismos y otras situaciones que en las personas normales pasarían prácticamente desapercibidas, y que una vez aparecidas no tienen tendencia a cesar espontáneamente. Al margen de los accidentes a los que todos estamos expuestos y que en el caso de los hemofílicos adquieren especial gravedad, las hemorragias más características en estos enfermos tienen asiento en las grandes masas musculares y en las articulaciones, determinando, si no son tratadas adecuadamente, un peligro para su vida e impotencias funcionales y deformidades importantes.

El tratamiento de los pacientes hemofílicos se realiza en la actualidad a través de la administración del factor del que son deficitarios en forma de concentrados que contienen esencialmente el factor requerido. Aunque se han realizado notables avances en la obtención y purificación del factor VIII, éste debe ser necesariamente extraído de la sangre de donantes, por lo que su utilización no está exenta del riesgo de transmisión de ciertas enfermedades víricas como la hepatitis, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y ciertas reacciones transfusionales.

En el caso particular del SIDA, de los 6.400 casos declarados en Estados Unidos, 45 correspondían a hemofílicos que habían adquirido la enfermedad a través de la administra-



ción de factor VIII contaminado con el virus responsable.

Dadas las especiales características de la enfermedad, su tratamiento se plantea en la actualidad desde dos puntos de vista. Por una parte, el de los accidentes hemorrágicos y de las intervenciones quirúrgicas programadas en las que se administra el factor a las dosis adecuadas y, por otra, la prevención de los accidentes a través de una adecuada educación del paciente y de su familia.

El problema económico no puede dejarse de lado, ya que su procedencia humana y el complicado proceso de purificación, hacen del tratamiento sustitutivo una carga económica importante. Sirva como dato orientativo que el costo tan sólo en factor VIII de un paciente hemofílico que deba ser sometido a una intervención de cirugía mayor es de aproximadamente un millón de pesetas.

Afortunadamente la mejoría lograda en el tratamiento ha re-

ducido los riesgos y número de complicaciones. Hoy en día las expectativas de vida de un hemofílico bien controlado son las mismas que de una persona normal.

Estos datos son espectaculares si se tiene en cuenta que, al final del siglo pasado, tan sólo un 10 % de estos pacientes alcanzaban los 21 años y que en la década de los cuarenta la expectativa media de vida no superaba los 18 años.

### Importantes ventajas

La obtención de un factor VIII sintético mediante ingeniería genética supondría entre otras las ventajas siguientes: la eliminación de las complicaciones ligadas a la procedencia humana del actual tratamiento, la desaparición de los problemas osteoarticulares que la mayoría de los hemofílicos padecen, al establecerse un tratamiento continuado, frenado en la ac-

tualidad por el temor a las complicaciones, una disminución del costo social de la enfermedad, eliminándose la actual dependencia de la donación de sangre voluntaria o remunerada. Como ya viene siendo habitual últimamente en investigación biológica, las realidades han superado las expectativas más optimistas. hace tan sólo dos años los introducidos en ingeniería genética planteaban la obtención de una molécula tan compleja como el factor VIII en un plazo de tiempo que ha sido rebajado limpiamente por los investigadores británicos y norteamericanos y, aunque deberán quizá transcurrir algunos años hasta que la comercialización del factor VIII obtenido por esta técnica sea un hecho, la viabilidad del proceso está ya prácticamente establecida.

ANTONIO SALGADO  
Unidad de cuidados intensivos Hospital del Valle de Hebrón

**REBAJAS CONTI CONTI**  
A partir de mañana  
Pau Casals, 7 Tuset, 30  
Sastrería, Camisería.  
No cerramos al mediodía. Venta normal en Diagonal, 512

**cace la perdiz al salto, con perro, en "COTO FONTS CALDETES"**  
1.800 Hectareas en la PROVINCIA DE TARRAGONA  
A una hora de Barcelona y a media hora de Tarragona  
Salida n.º 10 de autopista Barcelona-Lérida  
Organización de ojos para grupos de 10 a 12 cazadores  
Servicios de taco, cartuchera y perros  
**¡NO HACE FALTA SER SOCIO!** Sistema de Reserva por días de caza  
Cacerías diarias DEL 15 DE SEPTIEMBRE A LA 1ª SEMANA DE FEBRERO  
Información y reservas:  
Avda. Cubellas, 25-27-Vilanova i la Geltru (Barcelona)-Tels. (93) 893 18 58\* (93) 893 48 18

**ORO PLATA**  
MONEDAS MEDALLAS JOYAS Y OBJETOS PAPELETAS DE EMPEÑO RELOJES, ETC.  
Cuando haya comprobado el precio que le pagan venga y superaremos la oferta.  
**POSTOR**  
RAMBLAS, 83. Tienda  
TEL. 301 39 38  
(Entre Mercado de San José y calle Hospital)  
PASAMOS A DOMICILIO