



SEPTIEMBRE
DE 2013

Gaceta Biomédicas

Órgano Informativo del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM



UNAM
donde se construye el
futuro

Año 18 Número 9
ISSN 1607-6788



EDICIÓN
ESPECIAL

Presentan el libro
72 años del Instituto de
Investigaciones Biomédicas

Pág. 3



Rector

Dr. José Narro Robles

Secretario General

Dr. Eduardo Bárzana García

Secretario Administrativo

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez

Coordinador de
la Investigación Científica

Dr. Carlos Arámburo de la Hoz

Directora del IIB

Dra. Patricia Ostrosky Shejet



Directora y Editora

Lic. Sonia Olguin García

Editor Científico

Dr. Edmundo Lamoyi Velázquez

Reportera

Keninseb García Rojo

Corrector de Estilo

Juan Francisco Rodríguez

Gaceta Biomédicas, Órgano Informativo del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Es una publicación mensual, realizada por el Departamento de Prensa y Difusión del IIB. Editores: Sonia Olguin y Edmundo Lamoyi. Oficinas: Segundo piso del Edificio de Servicios a la Investigación y la Docencia del IIB, Tercer Circuito Exterior Universitario, C.U. Teléfono y fax: 5622-8901. Año 18, número 9. Certificado de Licitud de Título No. 10551. Certificado de Licitud de Contenido No. 8551. Certificado de Reserva de Derechos al Uso Exclusivo 04-2002-073119143000-102 expedido por la Dirección General de Derechos de Autor. ISSN 1607-6788 en trámite. Tiraje de 5 mil ejemplares en papel couché de 130g, impresión Offset. Este número se terminó de imprimir el 25 de septiembre de 2013 en los talleres de Navegantes de la Comunicación, S. A. de C.V. Pascual Ortiz Rubio 40. Col. San Simón Ticumac, Delegación Benito Juárez CP. 03660, México, D.F.

Información disponible en:

http://www.biomedicas.unam.mx/buscar_noticias/gaceta_biomedicas.html

Cualquier comentario o información, dirigirse a: Sonia Olguin, jefa del Departamento de Prensa y Difusión, correo electrónico: gaceta@biomedicas.unam.mx

Las opiniones expresadas en los artículos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente el punto de vista de la institución. Prohibida la reproducción total o parcial del contenido por cualquier medio impreso o electrónico, sin previa autorización. Ni el Instituto ni la **Gaceta Biomédicas** recomiendan ni avalan los productos, medicamentos y marcas mencionados.

Contenido

SEPTIEMBRE, 2013

Presentan el libro
*72 Años del Instituto de
Investigaciones Biomédicas*

3

Interacciones entre proteínas
y carbohidratos:
fundamentos y aplicaciones
biotecnológicas

4

Dengue severo:
diálogo cruzado
en los procesos de
inflamación-coagulación.

7

El uso de biorreactores
en la investigación
biomédica básica

10

Proteínas recombinantes
terapéuticas:
los medicamentos del
presente y los retos
de su producción

13

Red Biomédica
Browser Hijackers:
secuestradores
del navegador

16

Consulta ediciones anteriores usando nuestro código QR:



O a través de este enlace:

www.biomedicas.unam.mx/buscar_noticias/gaceta_biomedicas.html

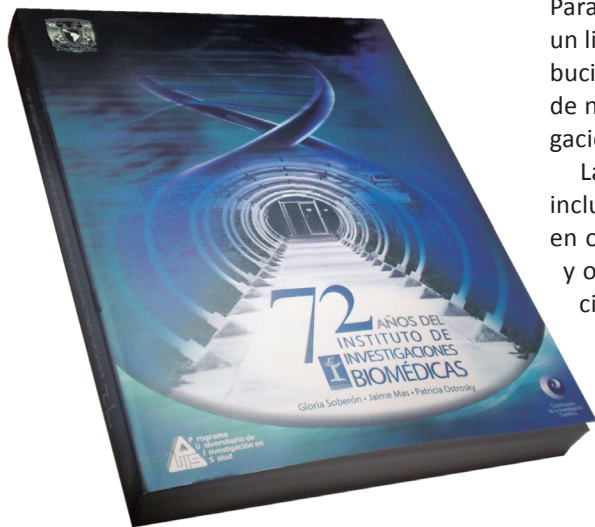


DEFENSORÍA DE LOS DERECHOS UNIVERSITARIOS

ACADÉMICOS Y ESTUDIANTES:

La defensoría hace valer sus derechos
Emergencias las 24 h. al teléfono **5528-7481**
Lunes a viernes de 9:00 a 14:00 y de 17:00 a 19:00 h

Edificio "D" nivel rampa, frente a Universum,
Circuito Exterior, CU, estacionamiento 4
Teléfonos: 5622-6220 al 22, fax: 5006-5070
ddu@servidor.unam.mx



Para celebrar 72 años de su fundación, el Instituto de Investigaciones Biomédicas editó un libro escrito por la comunidad académica, en donde se refleja la significativa contribución que realiza la institución a la investigación biomédica en el país y a la formación de nuevos investigadores, al tiempo que da cuenta de la variedad de líneas de investigación en las que trabajan sus miembros.

La obra, coordinada por los doctores Patricia Ostrosky, Jaime Mas y Gloria Soberón, incluye capítulos en donde se abordan las líneas de investigación de diversos grupos; en otros se expone la percepción de los investigadores sobre el avance de la ciencia, y otros más dan continuidad a cuestiones tratadas en el libro conmemorativo de los cincuenta años del IIB.

En la presentación del libro *72 Años del Instituto de Investigaciones Biomédicas*, la directora, Patricia Ostrosky, comentó que la publicación celebra la madurez que la institución científica ha alcanzado en áreas como la biología del desarrollo, la investigación sobre cáncer, la fisiología, la inmunología, la microbiología, las neurociencias, la nutrigenómica, la toxicogenómica y la virología.

Por su parte, el doctor Ruy Pérez Tamayo, Investigador Emérito de la Facultad de Medicina, y quien fuera jefe del Departamento de Biología Celular del IIB de 1967 a 1974, destacó la “extraordinaria amplitud y variedad de temas de investigación, así como la calidad de muchas de las ilustraciones” de la publicación.

Dijo que aun cuando no se sabe cómo se originaron las presentaciones de los libros, éstas constituyen un ritual en el que se participa para festejar la edición de una obra, “pero sobre todo participamos en ellas porque somos miembros de la especie *Homo sapiens* y llevamos escrito en el DNA nuestra preferencia y debilidad por los rituales”.

El doctor Pérez Tamayo indicó que su relación con Biomédicas comenzó en los años cuarenta, siendo estudiante de Medicina, cuando junto con Raúl Hernández Peón y Carlos Guzmán Flores realizó estudios

sobre la regulación nerviosa de la circulación sanguínea intrarrenal bajo la asesoría del doctor Efrén C. del Pozo en el Laboratorio de Estudios Médicos y Biológicos. A finales de los años sesenta regresó al instituto para incorporarse como investigador.

En su intervención, el doctor Guillermo Ruiz Palacios, Comisionado Coordinador de los Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad, consideró que uno de los principales aciertos de la comunidad del IIB a lo largo de estos 72 años ha sido el establecimiento de Unidades Periféricas en diferentes Institutos Nacionales de Salud para contribuir a la llamada “medicina de transferencia”.

El doctor Guillermo Ruiz Palacios señaló que en Biomédicas se han formado varias generaciones de investigadores extraordinarios, y destacó la permanencia y evolución del instituto a lo largo de los años, lo cual ha podido constatar tras formar parte de la comisión dictaminadora y mediante su trabajo como coordinador de los Institutos Nacionales de Salud.

Asimismo, el doctor Ruiz Palacios recordó que Biomédicas nació en un momento “crucial para el país, con la llegada de intelectuales españoles a México que enriquecieron la Universidad de manera excepcional”. Por su parte el doctor Ruy Pérez Tamayo agregó que el primer antecedente del IIB fue el Laboratorio de Fisiología, creado en noviembre de 1940 por la Casa de España en México (hoy el Colegio de México) con apoyo de la Fundación Rockefeller, “para proporcionarles un lugar de trabajo a un grupo de médicos españoles republicanos después de la Guerra Civil en su país. Un año después cambiaría su nombre por el de Laboratorio de Estudios Médicos y Biológicos, precursor del actual instituto.

Por la amplia tradición del IIB, el doctor Guillermo Ruiz Palacios calificó como un acierto de la comunidad de Biomédicas el plasmar la historia del instituto en un libro, pues éste constituye un registro invaluable para la conciencia social, histórica y científica del país. [f](#)

Presentan el libro *72 Años del Instituto de Investigaciones Biomédicas*

Keninseb García Rojo



Doctor Ruy Pérez Tamayo



Los doctores Guillermo Ruiz Palacios, Patricia Ostrosky y Ruy Pérez Tamayo

Interacciones entre proteínas y carbohidratos: fundamentos y aplicaciones biotecnológicas

Guillén, D. Moreno-Mendieta, S. A., Ortiz-Soto, M., Santiago, M., Cárdenas. C., Aguilera, P., García B., Armenta, S., Rizo, J., Manterola, A., Escalante, L. y Rodríguez-Sanoja, R.

Los carbohidratos son la fuente de energía por excelencia de los seres vivos y forman parte de elementos estructurales y protectores, unidos a otras moléculas como lípidos o proteínas formando glicoconjugados. De hecho, se reporta que más de la mitad de las proteínas conocidas de organismos eucariotes se encuentran glicosiladas (16).

En este contexto, es importante destacar el papel esencial de los carbohidratos, por ser el tipo de biomoléculas con mayor capacidad para la diversidad estructural, y por lo tanto para transmitir información. Los carbohidratos están implicados en procesos de reconocimiento, señalización y adhesión celular; esto es, en la interacción huésped-patógeno, en la respuesta inmune, en el desarrollo celular, en la reproducción y en la carcinogénesis, ya que los glucanos regulan los procesos de diferenciación celular, invasión y metástasis, entre otros.

Para realizar funciones tan diversas, los animales, las plantas y los microorganismos sintetizan una gran variedad de proteínas con capacidad de modificar o reconocer azúcares. Las proteínas capaces de unirse a carbohidratos (lectinas, anticuerpos y proteínas de transporte) y las enzimas que catalizan diferentes reacciones sobre ellos, están finamente diseñadas para reconocer características específicas de los carbohidratos.

Los módulos de unión a carbohidratos (MUCs) son dominios proteicos independientes, no catalíticos que interaccionan con carbohidratos. Estos módulos fueron originalmente descubiertos en proteínas de plantas y microorganismos pero están

realmente presentes en todos los dominios de la vida.

Los MUCs actúan como módulos de anclaje en enzimas multimodulares como las glicosido-hidrolasas y las glicosil-transferasas, pero también en otras proteínas no catalíticas (5, 12). Estos módulos se pliegan de manera independiente, su unión al azúcar es reversible y no altera la estructura de los ligandos, a menos que una actividad catalítica esté relacionada.

La estructura de muchos de estos MUCs se ha dilucidado, observándose la presencia de una región con la propiedad de discriminar entre los diferentes arreglos que presentan los carbohidratos, así como mediar la unión de la proteína a esta clase de sustratos (1). Las características que permiten el reconocimiento, ya sea promiscuo o específico, han dado pie a un importante número de estudios, impulsados en especial por las aplicaciones potenciales de estos dominios.

En nuestro laboratorio se abordan varios temas relacionados con las glicosido-hidrolasas y los MUCs desde diferentes perspectivas. Se realizan estudios fundamentales para dilucidar los mecanismos moleculares que dirigen la interacción entre algunos MUCs y sus sustratos, utilizando diferentes técnicas de biología molecular y estructural. Por otro lado, se buscan nuevas aplicaciones biotecnológicas para los dominios de unión a azúcares y para las glucósido-hidrolasas. Al mismo tiempo, mediante el uso de herramientas de proteómica se investigan y describen enzimas con nuevas características.

Para realizar los estudios de interacción carbohidrato-proteína, utilizamos alfa-amilasas de bacterias lácticas como modelo. En estas amilasas, específicamente en las producidas por el género *Lactobacillus*, encontramos arquitecturas diferentes a las reportadas para otros grupos taxonómicos. Normalmente los MUCs, en este

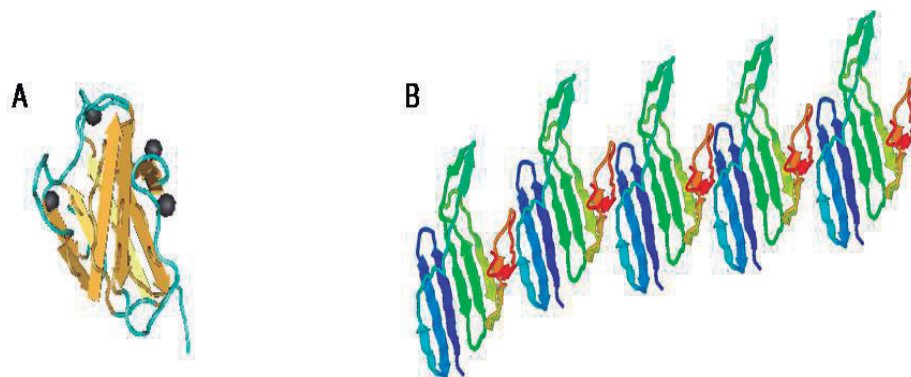


Figura 1

A) Representación estructural del dominio de fijación al almidón de la alfa-amilasa de *Bacillus halodurans* (PDB ID: 2C3G), B) Modelo estructural del dominio de fijación al almidón de la alfa-amilasa de *Lactobacillus amylovorus*.

caso los dominios de unión al almidón, se encuentran formados por una centena de aminoácidos que se organizan espacialmente en un barril beta distorsionado (Figura 1). Sin embargo, en las amilasas de lactobacilos, el dominio de unión al almidón se encuentra formado por 4 ó 5 de estos MUCs (2, 9). Este arreglo en tándem no es usual, ya que el número máximo de módulos en tándem reportado en amilasas es de dos.

Eliminando la secuencia que codifica para los MUCs del gen de alfa-amilasa de *L. amylovorus*, se demostró que la función principal de los módulos en tándem es la fijación al gránulo de almidón, lo que permite a la alfa-amilasa la hidrólisis del almidón insoluble (Figura 2). Además se observó que existe una disminución de la afinidad por el almidón soluble, lo cual sugeriría que esta estructura también

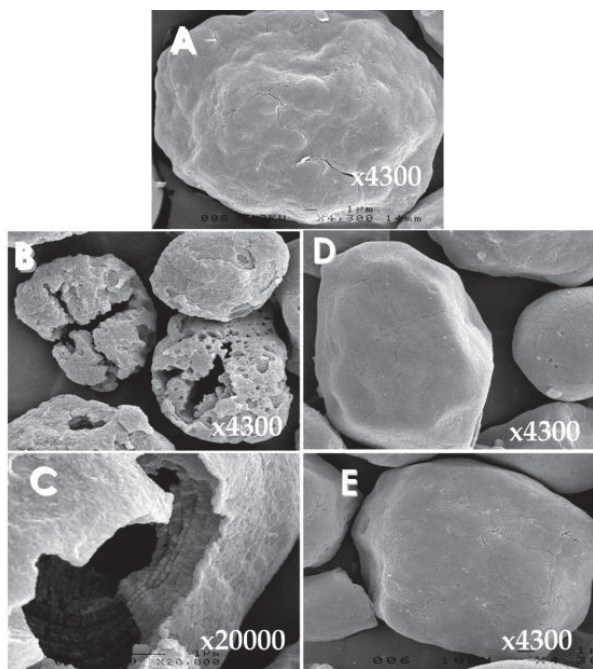


Figura 2
Imágenes obtenidas en el microscopio electrónico de barrido en el que se muestran: A) Gránulos de almidón de maíz sin tratamiento. B y C) Gránulos de almidón de maíz tratados con la alfa-amilasa de *L. amylovorus*. D y E) Gránulos de almidón de maíz tratados sólo con el dominio catalítico de la alfa-amilasa de *L. amylovorus* (los MUC fueron eliminados del gen) (14).
Reproducido de la referencia 11. Autorización otorgada por Springer.

tiene algún papel sobre la catálisis (13, 14). Estos resultados indican que funcionalmente estos dominios permiten la interacción entre el sustrato insoluble y la enzima en solución, ya que el almidón se encuentra en la naturaleza en forma de gránulos densos insolubles que ninguna enzima podría hidrolizar si el sustrato no fuera accesible para el sitio activo del dominio catalítico.

Para identificar si las unidades en tándem actúan como una unidad o como módulos separados, se construyó una serie de péptidos formados por uno, dos, tres, cuatro y cinco módulos aislados del dominio catalítico. Se encontró que cada uno de los módulos puede unirse al almidón y que hay un incremento en la adsorción en función del número de módulos. Sin embargo, dicho incremento no es lineal, lo que sugiere que después de la unión del primer módulo, los eventos subsecuentes de unión son facilitados por las interacciones preestablecidas, lo que optimiza la adsorción (7, 15).

Aun entendiendo la sinergia que existe entre los módulos de la amilasa de *L. amylovorus*, el mecanismo preciso de unión en la mayoría de las enzimas y proteínas que unen carbohidratos no se ha dilucidado. Estudios estructurales muestran que los residuos que interactúan directamente con el sustrato son, en general, aromáticos, reportándose con mayor frecuencia el triptófano y la tirosina (Figura 3). Una observación de nuestro grupo de trabajo es que la mutación de estos residuos lleva consigo la pérdida de la capacidad de unión de estas proteínas. Utilizando electroforesis de afinidad, se encontró que la mutación de un solo residuo, el triptófano localizado en la posición 32 de un MUC de la alfa-amilasa de *L. amylovorus*, causa la pérdida total de la afinidad por el carbohidrato, mientras que la mutación de otros residuos como las tirosinas 18 y 20 únicamente ocasionan una disminución en la capacidad de unión (11). Estos resultados sugieren que

solo existe un sitio de unión al almidón dentro de cada MUC. Esta teoría ha sido confirmada con estudios de calorimetría de titulación isotérmica realizados actualmente en el laboratorio (3).

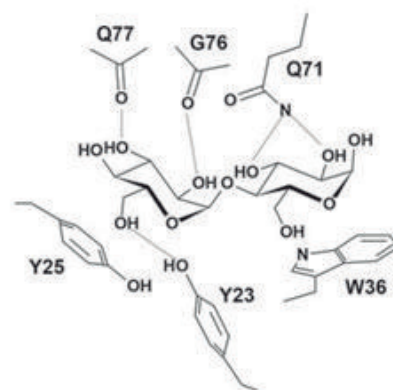


Figura 3
Esquema que muestra las interacciones que forma con la maltosa el MUC de la amilasa formadora de maltohexaosa de *Bacillus halodurans* (C-125). Las cadenas laterales de los residuos aromáticos crean interacciones de tipo hidrofóbico con las unidades de carbohidratos, mientras que algunos de los residuos polares que se encuentran cercanos forman puentes de hidrógeno, ya sea directamente con los grupos hidroxilo presentes en el carbohidrato o bien mediados por moléculas de agua, lo que permite estabilizar la interacción. Reproducido de la referencia 1.

Los datos obtenidos sobre la interacción entre los MUCs y algunos azúcares nos han permitido diseñar diferentes estrategias para la inmovilización de muy diversas proteínas sobre carbohidratos que, como se mencionó, son matrices abundantes, económicas y de una gran variabilidad estructural. Por ejemplo, la celulosa, la quitina y el almidón son los polímeros más abundantes que existen en la naturaleza. Además, son biodegradables y biocompatibles, por lo que tienen diversas aplicaciones en las industrias farmacéutica, alimentaria y de cosméticos, dado que son agentes químicamente inertes a los que se les puede dar diferentes presentaciones como filtros, membranas, polvos, fibras, geles, etcétera.

Recientemente, en el laboratorio se encontró que algunos MUCs pueden ser de utilidad para mejorar la estabilidad y solubilidad de las proteínas recombinan-

tes en las que se encuentran incorporados. De la misma forma, se encontró que la especificidad y afinidad de los MUCs por su ligando puede ser manipulada, lo que puede aprovecharse para desarrollar una gran variedad de aplicaciones (6, 8).

Una de las aplicaciones más evidentes es el uso de estos MUCs como etiquetas de purificación de proteína recombinante. Estas etiquetas, conocidas como “tags” son proteínas o péptidos que confieren la capacidad de unión específica a un ligando inmovilizado en un soporte sólido. Las resinas suelen ser caras y por lo tanto no son útiles para procesos de purificación a gran escala o industriales. En nuestro grupo de trabajo diseñamos un MUC con la capacidad de reconocer al almidón como etiqueta de inmovilización y purificación de proteínas sobre gránulos de almidón insoluble y, como se puede observar en la figura 4, demostramos que el sistema permite la purificación directa de la proteína de interés a partir de un lisado bacteriano; el sistema MUC-almidón es más eficiente que el sistema de histidinas (His6X) comúnmente usado en los laboratorios, con la ventaja adicional del precio y las características del almidón que permiten su uso directo no sólo en el laboratorio sino

también a escala industrial (4, 6, 10).

Una vez probada la eficiente inmovilización de las proteínas, se avanzó hacia una segunda aplicación, proponiéndose el uso conjunto de micropartículas de almidón y del MUC diseñado como un nuevo sistema de transporte de inmunógenos y proteínas terapéuticas por vía oral. Dos proteínas modelo (el fragmento C de la toxina tetánica y la proteína alfa-cristalina de *Mycobacterium tuberculosis*) se administraron oralmente a un modelo murino con el propósito de analizar la respuesta sistémica en los ratones.

Se demostró que la inmovilización de proteínas a través del MUC al almidón permite la entrega del antígeno al tejido linfático asociado al intestino, como se estableció por los niveles de respuesta IgG específica encontrados. Dado que los experimentos se llevaron a cabo sin adyuvantes, el modelo muestra un interesante potencial como acarreador de antígenos, péptidos bioactivos y proteínas terapéuticas (6, 8, 10).

La búsqueda de los determinantes estructurales que confieren afinidad a las proteínas por los carbohidratos continúa en el laboratorio al mismo tiempo que se desarrollan nuevas y diferentes aplicaciones biotecnológicas y biomédicas.

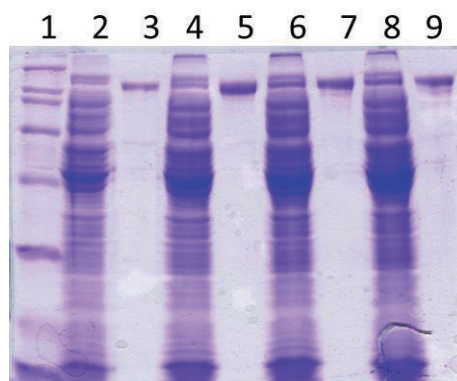


Figura 4
Purificación de la proteína TetCMUC directamente sobre gránulos de almidón. Carril 1) Marcador de peso molecular. Carriles 2, 4, 6 y 8) Proteínas totales de *Escherichia coli* 3, 5, 7 y 9) TetMUC eluída de los gránulos de almidón.

Referencias

1. Boraston A.B., Healey M., Klassen J., Ficko-Blean E., Lammerts van B.A., Law V.A. (2006) A structural and functional analysis of alpha-glucan recognition by family 25 and 26 carbohydrate-binding modules reveals a conserved mode of starch recognition. *J. Biol. Chem.* 281:587–598.
2. Giraud E., Cuny G. (1997). Molecular characterization of the alpha-amylase genes of *Lactobacillus plantarum* A6 and *Lactobacillus amylovorus* reveals an unusual 3' end structure with direct tandem repeats and suggests a common evolutionary origin. *Gene* 198:149–157.
3. García B. Estudio termodinámico de la interacción carbohidrato-proteína de la alfa-amilasa de *Lactobacillus amylovorus*. Tesis de licenciatura Facultad de Química, UNAM.
4. Guillen, D., Moreno-Mendieta, S., Aguilera, P., Sánchez, S., Farres, A. and Rodríguez-Sanoja, R. (2013) The starch-binding domain as a tool for recombinant protein purification. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97:4141–4148.

5. Guillen D., Sánchez S., Rodríguez-Sanoja R. (2010) Carbohydrate-binding domains: multiplicity of biological roles. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85:1241–1249.
6. Guillen D. (2013). Inmovilización de antígenos en almidón insoluble. Doctorado en Ciencias Bioquímicas. UNAM. En Proceso.
7. Guillen D., Santiago M., Linares L., Perez R., Morlon J., Ruiz B., Sanchez S., Rodríguez-Sanoja R. (2007) Alpha-amylase starch binding domains: cooperative effects of binding to starch granules of multiple tandemly arranged domains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73:3833–3837.
8. Moreno-Mendieta S. A. (2013). Inmovilización de antígenos de tuberculosis sobre gránulos de almidón. Doctorado en Ciencias Biomédicas. UNAM. En Proceso.
9. Morlon J., Mucciolo R., Rodríguez-Sanoja R., Guyot J. (2001) Characterization of the *L. manihotivorans* alpha-amylase gene. *DNA Seq* 12:27–37.
10. Rodríguez-Sanoja, R. 2012. Solicitud de patente MX/a/2012/005765.
11. Rodríguez-Sanoja R., Oviedo N., Escalante L., Ruiz B., Sánchez S. (2009) A single residue mutation abolishes attachment of the CBM26 starch-binding domain from *Lactobacillus amylovorus* alpha-amylase. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 36:341–346.
12. Rodríguez-Sanoja R., Oviedo N., Sanchez S. (2005) Microbial starch-binding domain. *Curr. Op. Microbiol.* 8:260–267.
13. Rodríguez-Sanoja, R., Ruiz, B., Guyot, J. P. and Sanchez, S. (2005) The Starch Binding Domain affects catalysis in two *Lactobacillus* α-amylases. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:297–302.
14. Rodríguez-Sanoja R., Morlon J., Jore J., Pintado J., Juge N., Guyot J.P. (2000) Comparative characterization of complete and truncated forms of *Lactobacillus amylovorus* alpha-amylase and role of the C-terminal direct repeats in raw-starch binding. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:3350–3356.
15. Santiago M., Linares L., Sánchez S., Rodríguez-Sanoja R. (2005) Functional characteristics of the *Lactobacillus amylovorus* α-amylase starch binding domain. *Biol.* 60:111–114.
16. Zhao Y.Y., Takahashi M., Gu J.G., Miyoshi E., Matsumoto A., Kitazume S., Taniguchi N. (2008). Functional roles of N-glycans in cell signaling and cell adhesion in cancer. *Cancer Sci.* 99: 1304–1310.

Dengue Severo: diálogo cruzado en los procesos de inflamación-coagulación



Blanca Haydé Ruiz Ordaz

La infección ocasionada por el virus dengue (DENV) afecta a dos quintas partes de la población mundial que habita en las regiones tropicales y subtropicales. De acuerdo con la OMS, anualmente se infectan 100 millones de personas a nivel mundial, de las cuales aproximadamente 250 mil manifiestan las formas severas de la enfermedad, presentando una letalidad muy elevada (20 por ciento). El DENV es transmitido al humano mediante la picadura de la hembra hematófaga de mosquitos del género *Aedes*, como *A. aegypti*, y *A. albopictus*. En 90-95 por ciento de los casos, la enfermedad es autolimitante y se caracteriza por la presencia de fiebre, cefalea, dolor retro-orbital, náuseas, vómito, artralgias, mialgias y leucopenia. Sin embargo, en 5-10 por ciento de los casos, se presentan las formas graves, como la Fiebre Hemorrágica por Dengue o FHD y/o el Síndrome de Choque por Dengue o SCD, que en su conjunto se conocen como Dengue Severo (DS).

Actualmente, no se cuenta con una vacuna efectiva y segura para prevenir la infección por DENV, no hay un tratamiento específico (antiviral) y no existe un modelo animal para el estudio del Dengue Severo. Por ello, el control del mosquito vector es la opción más efectiva en la contención de los brotes epidémicos, ya que el vector tiene un papel central en el mantenimiento del DENV en la naturaleza.

Actualmente existe una gran preocupación de las autoridades del Sector Salud, porque las modificaciones climáti-

cas a nivel mundial (el incremento en la temperatura, subtropicalización de áreas urbanas, el incremento en la duración y intensidad de las lluvias, entre otras), tienen una gran influencia en la cada vez más amplia distribución del mosquito vector y consecuentemente en el incremento en la transmisión del DENV.

Nuestro grupo está desarrollando diferentes proyectos relacionados tanto con el estudio de las interacciones tempranas (receptores) del DENV en distintas células blanco (en el vector y el huésped), como con el estudio de los mecanismos de evasión del DENV a la respuesta inmune del huésped, así como de los posibles mecanismos etiopatogénicos del DS.

En nuestro grupo (Imágenes 1 y 2), nos congratulamos (principalmente por el 72 aniversario de Biomédicas) porque hemos podido hacer diferentes aportaciones que han sido reconocidas en diferentes *journals* (*highlights* en 2 manuscritos, y en la portada en la revista *Biochimica et Biophysica Acta*) referentes al establecimiento de diferentes mecanismos etiopatogénicos involucrados en el daño al endotelio vascular (vasculopatía por dengue), el cual es el signo patognomónico en el SCD que presenta una elevada mortalidad.

En el daño tisular, los procesos de inflamación-coagulación forman parte esencial de la respuesta defensiva del huésped. Sin embargo, la desregulación de estas vías durante el proceso infeccioso, puede ser parte de la enfermedad. El endotelio vascular (EV) tiene un papel determinante en la respuesta al daño, ya

que funciona como una interfaz reguladora en la hemostasia (coagulación-fibrinólisis), la inflamación y la función de barrera endotelial (permeabilidad). Cuando el EV es activado (infección/trauma) se expresan proteínas transmembranales como el Factor Tisular (TF) para tratar de contrarrestar el daño tisular.

El TF, receptor de alta afinidad de los factores de la coagulación VII y VII activado (VIIa), pertenece a la familia de receptores de citocinas clase II. El complejo TF VII/VIIa inicia la cascada de la coagulación, generándose proteasas como la Trombina. Las proteasas de la coagulación (Trombina/Factor VIIa/Factor Xa) son capaces de modular el proceso inflamatorio a través de la activación de los receptores activados por proteasas (PARs). Los PARs son moléculas asociadas con las proteínas G; estas participan en la señalización de diferentes vías involucradas en la producción de citocinas proinflamatorias como TNF- α , el cual es el principal agonista en la expresión del TF, y desempeña un papel central en el diálogo cruzado o *crossstalk* en los procesos de coagulación-inflamación.

La regulación del proceso inflamatorio por proteasas de la coagulación ha sido ampliamente estudiada en diferentes modelos, como en la sepsis bacteriana y la fiebre hemorrágica inducida por el virus Ébola. En ambos modelos se ha demostrado que la administración de inhibidores del complejo TF/VIIa, reduce significativamente la respuesta inflamatoria

Continúa pág. 8 >



Imágenes 1 y 2

más que la atenuación en la coagulación. Asimismo, se ha descrito que la administración del factor VIIa recombinante en humanos induce niveles elevados de IL-8 e IL-6. El estudio de los mecanismos involucrados en la modulación de ambos procesos a través de sus receptores específicos (TF/PAR) brinda la oportunidad de proponer estrategias novedosas para la intervención terapéutica de enfermedades que ocasionan alteraciones pro-coagulantes y pro-inflamatorias a nivel del endotelio vascular (vasculopatía).

En el Dengue Severo, el daño al endotelio vascular (incremento en la permeabilidad vascular) es el factor predominante. Los mecanismos involucrados en la vasculopatía por dengue, aún se desconocen. Nosotros encontramos que aislados del DENV procedentes de pacientes

con FHD/SCD favorecen la expresión del TF en el endotelio vascular humano (en células obtenidas de cordón umbilical humano o HUVEC). Observamos que la sobre-expresión de TF en la superficie de las células endoteliales infectadas con los aislados virales más agresivos, es directamente proporcional a la generación de proteasas de la coagulación (Factor VIIa, Factor Xa y Trombina) y a la activación de los receptores de proteasas, principalmente PAR-1, el cual a su vez (a través de la vía de señalización de MAPKs ERK 1/2 y p38) favoreció la sobreexpresión de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-8 y moléculas proadherentes como VCAM-1. A su vez, las citocinas proinflamatorias incrementaron la expresión del TF, haciendo un círculo vicioso coagulación-inflamación-coagulación que se manifestó con

un incremento en la permeabilidad de la membrana endotelial (vasculopatía).

Para corroborar nuestros hallazgos, llevamos a cabo experimentos paralelos (en HUVEC) en presencia de anticuerpos bloqueadores del TF e inhibidores del complejo TF/VII. Con la inhibición de la cascada de coagulación, observamos una inhibición en la producción de citocinas proinflamatorias en las células endoteliales infectadas con el DENV y el restablecimiento de la función de barrera endotelial, lo que sugiere que existe un diálogo cruzado en los procesos de coagulación-inflamación, mediado por los receptores activados por proteasas (Imagen 3).

Asimismo, llevamos a cabo estudios paralelos para evaluar (no sólo la vía pro-coagulante que inicia el TF, sino también la vía anticoagulante de la proteína

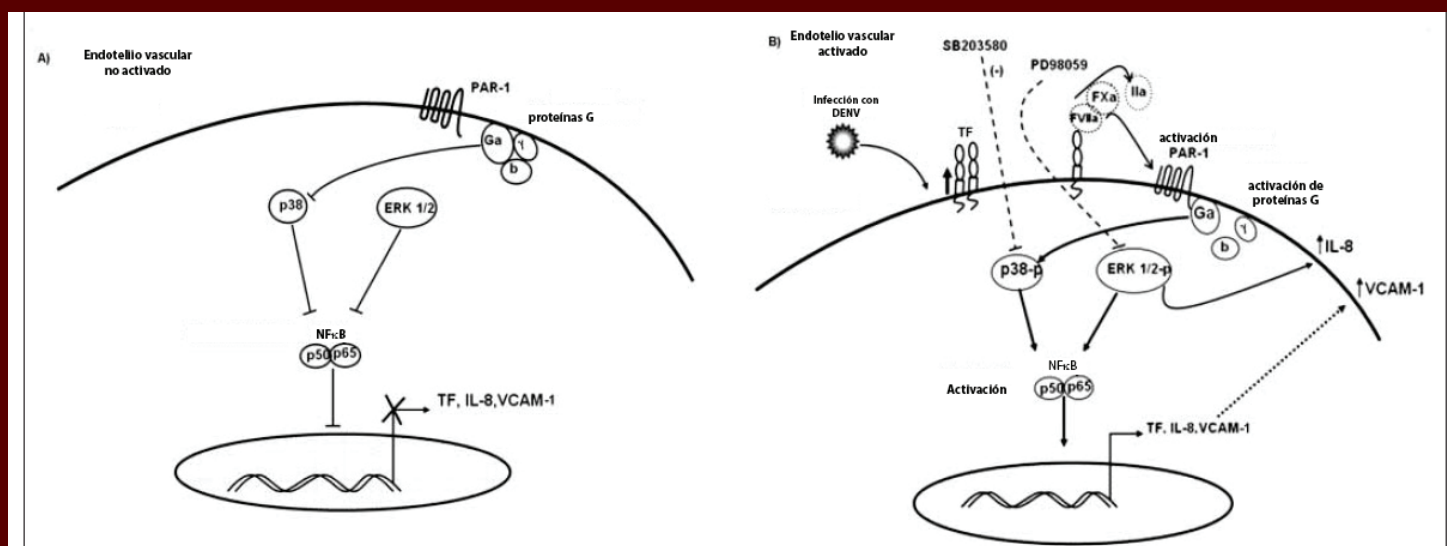


Imagen 3

En el modelo se resumen las vías de señalización involucradas en la activación de células endoteliales durante la infección con el DENV. Observamos que aislados virulentos del DENV inducen una respuesta tanto pro-inflamatoria (IL-8) como pro-adherente (VCAM -1) que favorecen la sobre-expresión de los receptores TF y PAR-1 a través de la fosforilación de MAPK-p38 y ERK1/2.

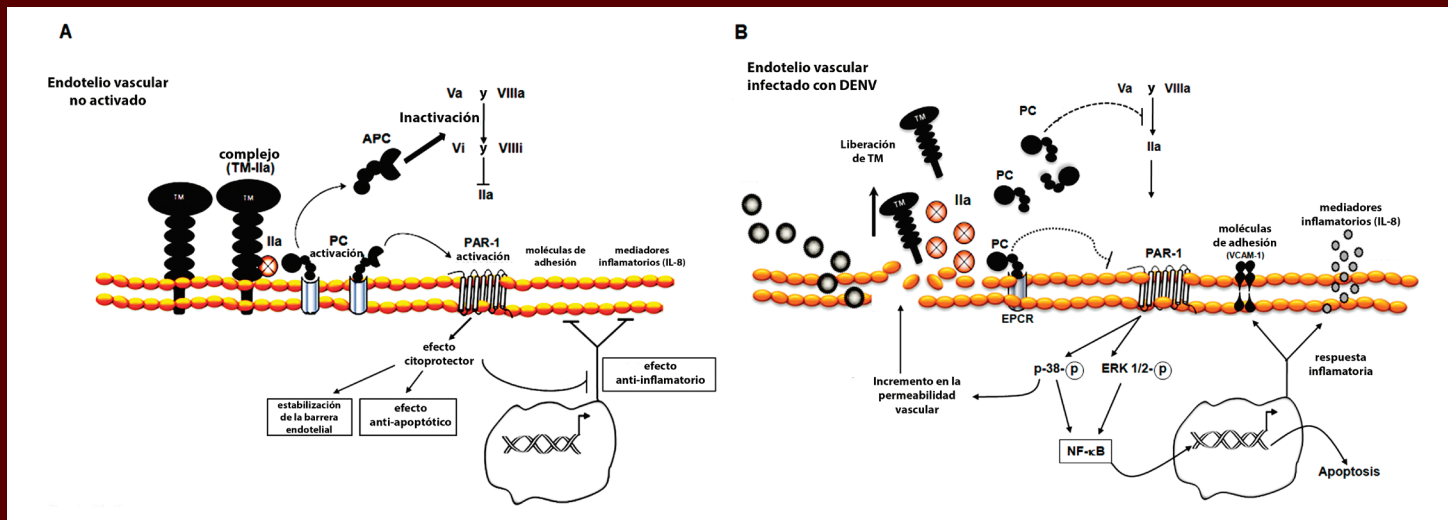


Imagen 4

Esquema de la alteración de la vía citoprotectora de la Proteína C, que favorece un incremento en la permeabilidad vascular. Observamos que aislados del DENV procedentes de casos de dengue severo inducen liberación del receptor (Trombomodulina) de la proteína C, inhibiendo la función de barrera endotelial

C activada [APC]) si se presenta una alteración de la vía citoprotectora y anti-coagulante que está mediada por APC, la cual es generada en condiciones normales por el complejo Trombina-Trombomodulina en la superficie endotelial. Observamos que durante la infección de células del endotelio vascular humano con DENV, se modifica el fenotipo fisiológico anti-coagulante, anti-inflamatorio ocasionado por una alteración de la vía citoprotectora (Imagen 4), que es favorecida por la liberación de la Trombomodulina de la superficie celular, lo cual causa una reducción en la generación de APC y daño endotelial progresivo. Asimismo, observamos que estos efectos adversos pueden revertirse cuando se administra proteína C recombinante a los cultivos. La proteína C recombinante actualmente se utiliza ampliamente en pacientes que presentan coagulación intravascular diseminada, ya que rompe el círculo vicioso inflamación-coagulación a nivel del endotelio vascular.

Proponemos que durante el choque hipovolémico (debido al incremento en la permeabilidad vascular) presente en los casos severos de dengue, el interrumpir el círculo vicioso inflamación-coagulación, coagulación-inflamación, es muy importante para el control de la vasculopatía. La elucidación de los principios básicos que participan en la señalización de las vías pro y anti-coagulante e infla-

matoria tiene diversas implicaciones para el desarrollo de estrategias adecuadas en el tratamiento del Síndrome de Choque por Dengue.

Por otro lado, para estudiar a nivel molecular la interacción del virus dengue tanto con las proteasas de la coagulación (plasminógeno-plasmina) como con sus receptores (uPAR), llevamos a cabo ensayos de *docking* y modelaje molecular mediante estudios *in silico* utilizando supercómputo, en el Laboratorio de Visualización Molecular (IXTLI) de la Dirección General de Computo y Tecnologías de la Información y la Comunicación de la UNAM. Nuestro grupo participó desde el diseño e instalación de este Laboratorio, por lo que Biomédicas fue uno de los primeros institutos a nivel mundial en desarrollar estudios de *docking* en macromoléculas para el estudio de procesos biológicos. Por el uso visionario de esta tecnología, nuestro Instituto obtuvo el Smithsonian Award en la categoría de Medicina. Este reconocimiento se encuentra en el museo de Historia de Boston Massachusetts, EUA (Imagen 5), por lo que en algún momento señaló el doctor Carlos Larralde "somos pieza de museo".

Finalmente, cabe mencionar que nuestros estudios a nivel básico, (tanto en células como a partir de sueros), nos han permitido proponer al Sector Salud, diferentes indicadores tempranos de riesgo a las formas severas de la en-

fermedad, lo que nos hizo acreedores al Premio "Dr. Luis Sánchez Medel", otorgado por la División Interamericana de la Sociedad Internacional de Hematología, dicho trabajo fue seleccionado de entre 44 trabajos de América Latina.

Quisiera concluir mi participación externando mi más amplio reconocimiento y agradecimiento a la Institución tan generosa como es la UNAM y manifestando mi más elevado compromiso con mi segundo hogar: el Instituto de Investigaciones Biomédicas, que me ha brindado la oportunidad de conocer a muchas personas maravillosas (colegas, estudiantes, colaboradores) tanto en el sentido profesional como humano.



Imagen 5

El uso de biorreactores en la investigación biomédica básica

Mauricio A. Trujillo-Roldán,
Abel Blancas-Cabrera
y Norma A. Valdez-Cruz

En la búsqueda de bioprocesos altamente eficientes para la producción de diferentes compuestos o proteínas, nuestro grupo se especializa en el entendimiento de los mecanismos moleculares involucrados en el crecimiento celular, el consumo de nutrientes, el metabolismo y la producción usando biorreactores.

Los biorreactores se utilizan para mantener y controlar el equilibrio nutricional y ambiental al interior del cultivo, y así poder comprender qué cambios particulares se deben a las modificaciones ambientales y cuáles a condiciones propias del crecimiento celular. Recientemente, nuestro grupo se ha encaminado a comprender cómo los parámetros nutricionales, oxidativos e hidrodinámicos determinan la producción de biopolímeros, metabolitos bioactivos y proteínas recombinantes. Hemos demostrado el efecto del oxígeno disuelto sobre la modulación de los perfiles moleculares en la producción de biopolímeros y enzimas recombinantes (1, 2). También, se han hecho contribuciones en la determinación del efecto de los nutrientes sobre la productividad de metabolitos bioactivos en hongos filamentosos y en la producción de biopolímeros bacterianos (3, 4). Igualmente, estamos interesados en comprender cómo puede modificarse la producción de proteínas recombinantes, y en algunos casos su calidad, mediante estrategias de cultivo, como la manipulación del oxígeno disuelto y la hidrodinámica en los biorreactores (5).

Qué es un biorreactor

Por definición un biorreactor es un sistema en el que se lleva a cabo una conversión biológica. Esta definición puede aplicarse a cualquier conversión realizada por enzimas, microorganismos y células animales o vegetales. A su vez, existen diferentes diseños de biorreactores; sin embargo, los biorreactores de tanque agitado son, en general, los biorreactores más utilizados en la industria biotecnológica (6), siendo éstos, los únicos sistemas donde es posible mantener condiciones ambientales y/o



Cultivos bacterianos en biorreactores de 10 L, en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Biomédicas.

nutricionales constantes, controladas y monitoreadas de los cultivos, tales como el oxígeno y el dióxido de carbono disueltos, el pH, la temperatura y la agitación, entre otros factores (7).

Los biorreactores agitados han dominado los procesos productivos durante los últimos 60 años, tiempo en el que no se han modificado significativamente. De hecho, los biorreactores usados hoy en día, son similares a aquellos usados a finales de la década de 1950 para producir penicilina o a los reactores químicos tradicionales (8). La gran mayoría de cambios en el diseño de los biorreactores se han basado en su interior; es decir, en el diseño de impulsores, que son los encargados de mantener la homogeneidad en el cultivo; de difusores, que entregan aire estéril al cultivo para suplir las necesidades de oxígeno; de deflectores, encargados de aumentar la turbulencia en el biorreactor y, de sistemas de enfriamiento/calentamiento. Sin embargo, los mayores avances se han presentado en la tecnología de la instrumentación para la adquisición y el control de las variables del proceso. Toda esta investigación se ha realizado con la finalidad de alcanzar mayores títulos productivos, además de la disminución de los costos de producción, sin poner en riesgo la calidad del producto.

Los biorreactores como herramientas de estudio

En todos los bioprocesos, la productividad depende de varios factores como la productividad específica de cada célula, la cantidad de biomasa que se logre en

el proceso productivo y el volumen del biorreactor. El aumento en la cantidad de producto producido por célula se logra con modificaciones en la biología misma de la célula, con ayuda de la biología molecular o con cambios en las condiciones fisiológicas del cultivo en el momento de la producción. Por su parte, un aumento en el número de células productoras de forma constante puede lograrse con estrategias de cultivo que involucren la continua alimentación y eliminación o inhibición de subproductos indeseables que puedan detener el crecimiento y la producción (9).

Por último, para aumentar la concentración celular se necesita comprender cómo deben introducirse los nutrientes al cultivo. Las metodologías más usadas para alimentar los biorreactores son aquellos donde los sustratos limitantes siguen un perfil predeterminado que normalmente se determina igual a la velocidad específica de crecimiento celular (10). El sustrato limitante más usado es la fuente de carbono, debido a que, al mantener bajos niveles de esta fuente, puede prevenirse la formación de compuestos inhibitorios al crecimiento. Sin embargo, cualquier nutriente puede usarse como sustrato limitante. El objetivo de nuestro grupo es lograr, por medio del incremento de la biomasa, la generación de una alta concentración de productos, comprendiendo los mecanismos moleculares involucrados, manteniendo la capacidad de monitoreo y control de las variables de proceso (oxígeno disuelto, pH y temperatura, entre otros).

Uso de biorreactores en el laboratorio para entender los procesos industriales

Es de especial interés en nuestro grupo de investigación diseñar, modelar, simular y entender problemas comunes que suceden en la industria, así como escalar a niveles industriales, procesos generados a partir de la ciencia básica sin deteriorar las características productivas y de calidad de los bioproductos. Es bien conocido que la disminución de la intensidad de mezclado asociada al gran tamaño de los biorreactores industriales, conlleva consecuencias graves en los cultivos, ya que las células enfrentan gradientes nutricionales, térmicos, oxidativos y de pH, entre otros. Estos gradientes se deben al flujo del cultivo entre las zonas cercanas a los impulsores (bien mezcladas) y las zonas lejanas a los mismos, normalmente cercanas a las paredes del biorreactor (zonas muertas o mal mezcladas). Las variaciones entre ambas zonas pueden ser de varios órdenes de magnitud en algunas variables. En especial, la concentración de oxígeno disuelto se ve afectada de manera importante, por su baja solubilidad en los medios acuosos.

El escalamiento descendente es una de las estrategias más usadas para poder simular los biorreactores industriales, basándose en la conversión de los factores específicos del proceso que causan el mayor estrés celular -el oxígeno disuelto, por ejemplo- de variables espaciales (en los biorreactores industriales) en variables temporales (en biorreactores de laboratorio). Que un paquete celular específico sufra variaciones en estos factores específicos que causan estrés, se logra por medio de la programación de los controles de cada variable (11). En el caso del oxígeno, puede hacerse mediante el enriquecimiento con oxígeno gaseoso puro o el empobrecimiento con nitrógeno del flujo de aire que ingresa de manera estéril al biorreactor. Los cambios en la transferencia de calor pueden lograrse, por ejemplo, haciendo pasar el paquete celular repetidas veces de un tanque de baja temperatura a uno de alta, por medio de bombas peristálticas que mantienen la esterilidad del cultivo. Nuestro interés en esta problemática consiste en comprender cómo los cultivos celulares pueden contender con cambios abruptos en un

Continúa pág. 12 >



Biorreactores de 1.0 litros en la planta piloto del Instituto de Investigaciones Biomédicas.

ambiente no natural (específicamente en biorreactores industriales), y como éstos pueden llegar a favorecer los aspectos productivos y de calidad de los metabolitos de interés.

Nuevos diseños y materiales de construcción

En la industria biofarmacéutica actual, nuevas estrategias de cultivo permiten obtener una densidad celular elevada con alto rendimiento de productos biotecnológicos cuya producción debe cumplir con elevados estándares de calidad y satisfacer una normatividad compleja. Lo anterior obliga al desarrollo de nuevas tecnologías para suplir estas necesidades, por lo que en los últimos diez años, el diseño y uso de biorreactores desechables ha crecido de manera exponencial. Los beneficios de la tecnología desechable consisten principalmente en la eliminación de largos procesos de limpieza, esterilización, calificación, validación, además de la reducción de tiempo entre lotes, el procesamiento de diferentes productos en la misma área, entre otros, lo que permite la disminución de los costos (12). En nuestro grupo estamos interesados en el uso y estudio de estos nuevos biorreactores, así como en sus posibles aplicaciones usando diferentes modelos celulares, comprendiendo los mecanismos moleculares de los cambios que suceden con la variación de los parámetros ambientales. [f](#)

Referencias

1. Trujillo-Roldán MA, Peña C, Galindo E. (2003) Components in the inoculum determine the kinetics of *Azotobacter vinelandii* cultures and the molecular weight of its alginate. *Biotech Lett.* 25:1251-1254.

2. Trujillo-Roldán MA, Moreno S, Espin G, Galindo E. (2004) The roles of oxygen and alginate-lyase in determining the molecular weight of alginate produced by *Azotobacter vinelandii*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 63: 742-47.

3. Porras-Arboleda SM, Valdez-Cruz NA, Rojano B, Aguilar C, Rocha-Zavaleta L, Trujillo-Roldán MA. (2009) Mycelial Submerged Culture of New Medicinal Mushroom, *Humphreya coffeata* (Berk.) Stey. (Aphyllphoromycetideae) for the Production of Valuable Bioactive Metabolites with Cytotoxicity, Genotoxicity, and Antioxidant Activity. *Int J Med Mushr.* 11, 4, 335-50.

4. Zapata-Vélez AM, Trujillo-Roldán MA. (2010) The lack of a nitrogen source and/or the C/N ratio affects the molecular weight of alginate and its productivity in submerged cultures of *Azotobacter vinelandii*. *Ann Microbiol.* 10.1007/s13213-010-0111-7.

5. Valdez-Cruz NA, Caspeta L, Perez N, Ramírez OT, Trujillo-Roldán MA. (2010) Production of recombinant proteins in *E. coli* by the heat inducible expression system based on the phage lambda pL and/or pR promoters. *Microb Cell Fact.* 9: 18.

6. Schaepe S, Kuprijanov A, Sieblist C, Jenzsch M, Simutis R, Lübbert A. (2013)

kLa of stirred tank bioreactors revisited. *J Biotechnol.* 2013 Sep 8. doi: 10.1016/j.jbiotec.2013.08.032

7. Trujillo-Roldán MA, Valdez-Cruz NA. (2009) The use of disposable bioreactors in the biopharmaceutical industry and its implications on engineering. *DYNA.* 158: 275 – 283.

8. Finn RK. (1954) Agitation-aeration in the laboratory and in industry. *Bacteriol Rev.* 18:254-74.

9. Babu KR, Swaminathan S, Marten S, Khanna N, Rinas U. (2000) Production of interferon-alpha in high cell density cultures of recombinant *Escherichia coli* and its single step purification from refolded inclusion body proteins. *Appl Microbiol Biotechnol.* 53: 655-60.

10. Lee SY. (1996) High cell-density culture of *Escherichia coli*. *Trends Biotechnol.* 14: 98-105.

11. Trujillo-Roldán MA, Pena C, Ramirez OT, Galindo E. (2001) Effect of oscillating dissolved oxygen tension on the production of alginate by *Azotobacter vinelandii*. *Biotechnol Prog.* 17: 1042-48.

12. Singh V. (2008) Web Exclusive: Predicting the Future of the Bioreactor: Specific Demands Will Drive the Evolution of This Device. *GEN News.* 28, 2.



El doctor Mauricio Trujillo y su grupo de investigación.

Proteínas recombinantes terapéuticas: los medicamentos del presente y los retos de su producción

Norma A. Valdez-Cruz, Andrea Bedoya López, Liliana G. Viguera-Meneses y Mauricio A. Trujillo-Roldán

El interés de la biotecnología farmacéutica por elaborar medicamentos biológicos compuestos por proteínas recombinantes (PR) y producidos *in vitro* comenzó en 1970 con los avances en la ingeniería genética y la biología molecular.

Actualmente, la biofarmacéutica cubre alrededor de 20 por ciento del mercado de medicamentos. Las PR terapéuticas funcionan remplazando algunas proteínas deficientes en un organismo, ya sea por herencia o deterioro, y se usan en el tratamiento de enfermedades crónicas, degenerativas y virales, entre otras. Sin embargo, su uso es restringido debido a su elevado costo, y de ahí la importancia de mejorar su producción.

En el presente capítulo describimos una breve historia del desarrollo de procesos productivos de PR, así como los retos que necesitan superarse para mejorar su producción.

Historia de las primeras proteínas recombinantes

Durante los últimos 57 años, se han conjuntado múltiples hallazgos para generar las tecnologías que hoy se usan en la producción de PR. A partir de la descripción del modelo de la doble-hélice del ácido desoxirribonucleico (ADN) por Watson y Crick, en 1953, la biotecnología sufrió un cambio dramático y en aproximadamente 20 años, dio origen a la tecnología del ADN recombinante (rADN), que se basa en la introducción de un gen exógeno en una célula. Mientras tanto, en 1958 se desarrollaron los primeros cultivos celulares eucarióticos superiores, como los de células de ovario de hámster chino (CHO) (Kao & Puck, 1967), y en 1975 los cultivos de células híbridas

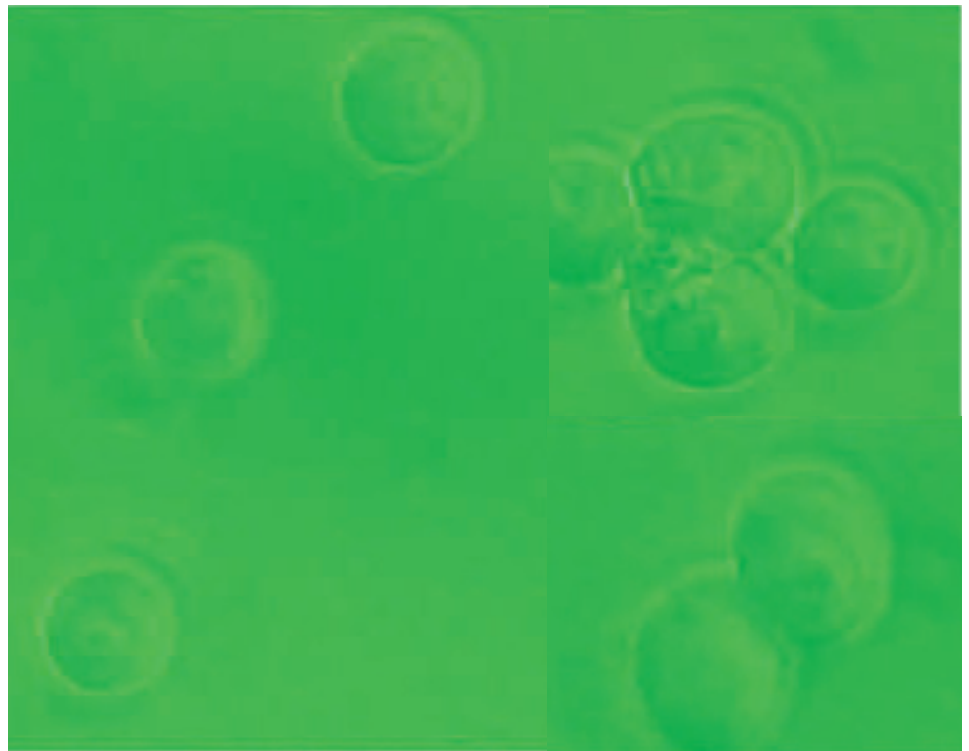


Figura 1

Fotografías de células de ovario de hámster chino (CHO) crecidas en cultivos en suspensión.

o “hibridomas” (células originadas de la fusión de linfocitos B con células de mieloma) (Köhler y Milstein, 1975). Los ingenieros bioquímicos aportaron su experiencia de más de cien años en el cultivo de microorganismos. La fusión de todo este conocimiento tuvo por resultado la producción de la insulina humana en bacterias, la cual fue la primera PR aprobada para uso terapéutico por la Administración de Fármacos y Alimentos (FDA por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos en 1982. En 1986, la glicoproteína (proteína con carbohidratos unidos) “activa-

dor de plasminógeno de tejido humano” (tPA) producida en células de ovario de hámster chino (CHO), también se aprobó para su venta. Desde entonces las células CHO se han usado ampliamente para producir PR terapéuticas. También se han desarrollado sistemas de selección, medios de cultivo y otros sistemas celulares procariontes (bacterias), o eucariontes (levaduras, células de insecto, de mamífero o plantas) que han favorecido la producción de PR a escala industrial (Pa-

Continúa pág. 14 >

lomares et al., 2004). Sin embargo, los procesos productivos actuales no satisfacen la demanda mundial, y además son costosos. En 2012, las ventas mundiales de proteínas recombinantes terapéuticas alcanzaron los 125 billones de dólares estadounidenses*.

¿Cómo se producen las proteínas recombinantes?

Para lograr la producción de una PR se necesita un gen que codifique para dicha proteína; el gen se inserta en un vector y el material genético se transfiere a una célula hospedera. Las células más comúnmente utilizadas en la industria biofarmacéutica son las bacterias, levaduras y células de mamífero. Una de las bacterias preferidas para la producción de PR es *Escherichia coli*, pues su genética es bien conocida, su cultivo es sencillo, rápido y de bajo costo. No obstante, estas células tienen la desventaja de que no “decoran” o modifican las proteínas como sí lo hacen las células de mamífero. Por esta razón, muchas proteínas complejas que requieren mayor similitud con las proteínas humanas, como por ejemplo anticuerpos, eritropoyetina, hormonas y enzimas entre muchas otras, se sintetizan en células de mamífero. Estas células pueden modificar las PR de forma compleja, adicionándoles carbohidratos (glicosilación) y/o lípidos (lipidación: prenilación, miristoilación, o palmitoilación), cambiando las características químicas de los residuos (fosforilación, metilación,

hidroxilación o acetilación), así como dándoles una estructura muy similar a las humanas evitando reacciones alérgicas o efectos secundarios (Palomares et al., 2004; Brooks, 2006).

En el laboratorio, usualmente las PR se producen en contenedores pequeños, como por ejemplo frascos T, matraces, botellas giratorias, placas de pozos, hasta biorreactores pequeños. En tanto, a escala industrial se emplean biorreactores de diferentes tamaños y conformaciones con condiciones controladas de temperatura, agitación, oxígeno, CO₂, pH, entre otras; cambiando también la forma de administrar los nutrientes. Por ejemplo, se utilizan cultivos en lote en los que se adicionan los nutrientes al inicio del cultivo, en lote alimentado en los que los nutrientes se racionan y se van incorporando poco a poco, o en cultivos continuos donde las células reciben los nutrientes de forma constante. De manera general, un bioproceso para producir una PR consiste en hacer crecer la población celular que las produce, recuperarlas del medio celular o de las células, purificarlas, estabilizarlas, formularlas y distribuir las, para que lleguen a los usuarios finales.

El uso de proteínas recombinantes y su mercado

Hoy en día, el conocimiento sobre las enfermedades que aquejan a la población, así como la investigación médica, han permitido comprender las bases moleculares que las provocan, lo cual es parte

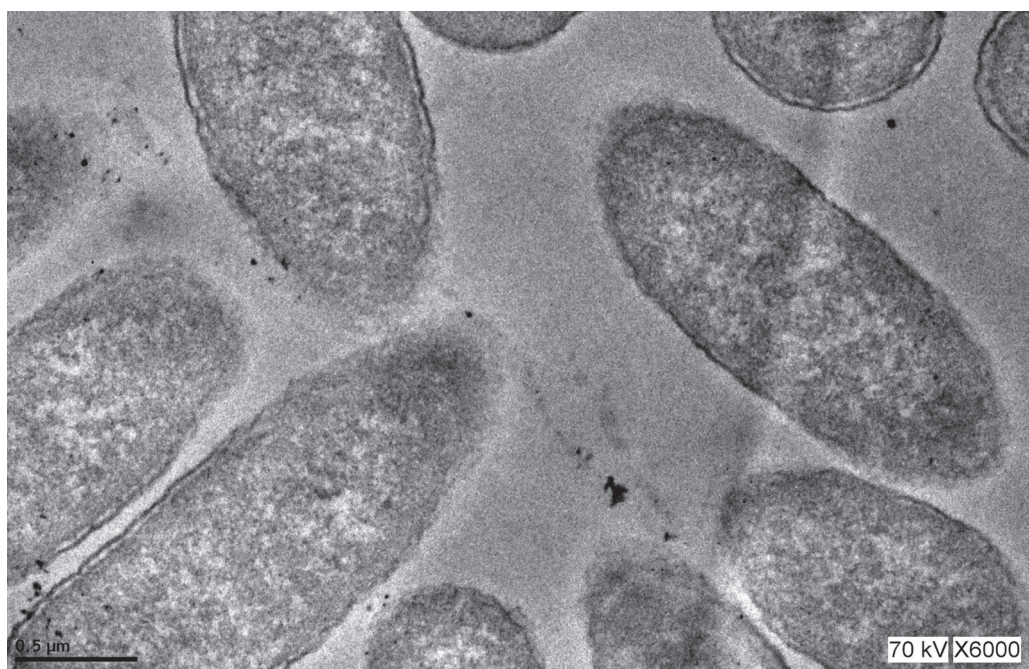
de la investigación que se realiza en el Instituto de Investigaciones Biomédicas. Con la información generada, se planea de forma estratégica el uso de PR para suplir la deficiencia de proteínas naturales en el organismo, su desregulación, así como para la inactivación de otras proteínas malignas o extrañas, en la terapia de varias enfermedades. Las PR también se emplean en el diagnóstico y en la prevención de enfermedades.

En la clínica se utilizan actualmente muchas PR terapéuticas, como por ejemplo: la insulina para el tratamiento de la diabetes, la eritropoyetina para el tratamiento de diferentes tipos de anemia, el factor VIII para el tratamiento de la hemofilia, anticuerpos monoclonales para el tratamiento del cáncer, artritis reumatoide o patologías asociadas con la respuesta inmune, y el interferón beta para el tratamiento de la esclerosis múltiple, entre muchos otros. Para realizar diagnósticos, preferentemente se utilizan anticuerpos recombinantes que reconocen proteínas específicas que son producidas en algunas enfermedades como sida, la hepatitis o el cáncer. En la parte preventiva muchas compañías se han dedicado a producir proteínas virales recombinantes, con la ventaja de no ser infectivas y que funcionan como vacunas. Finalmente, las PR también se han comenzado a usar en dispositivos bioelectromecánicos.

Continúa pág. 16 >

Figura 2

Micrografía de cultivo bacteriano (*Escherichia coli*) crecido en biorreactor.



En nuestros días, más de cien compañías en el mundo desarrollan y venden poco más de ochenta biofármacos entre los que destacan por su consumo la eritropoyetina, el factor estimulador de colonias de granulocitos, la insulina, el interferón beta 1a y 1b y el interferón alfa. Particularmente, desde 1996, los anticuerpos monoclonales recombinantes dominan el mercado mundial generando ventas superiores a los 62.55 billones de dólares, por su uso en diferentes terapias o diagnóstico*.

Los retos

La tecnología recombinante es un gran paso en la producción de PR; sin embargo, los retos tecnológicos para producirlas constituyen un desafío, pues cada PR tiene características propias, y por lo tanto cada proceso tendrá particularidades. Los retos actuales en la producción de biofármacos se enfocan en asegurar la efectividad y calidad de las PR, incrementar la productividad de los procesos y disminuir sus costos. Por ejemplo, la apropiada glicosilación que hace parte de la calidad del producto, ha sido uno de los mayores retos de la biotecnología farmacéutica, ya que la adición de carbohidratos inapropiada o su carencia, puede reducir la actividad, provocar reacciones adversas o

modificar el tiempo de vida media de la PR (Brooks, 2006). De ahí que la caracterización fisicoquímica y de bioequivalencia de las moléculas sea fundamental.

En general, los procesos están siendo mejorados aumentando los niveles de expresión del gen en cuestión mediante la incorporación de señales o elementos moleculares que controlan la expresión de los biofármacos. También se ha propuesto la adición de proteínas que mejoren la estructuración (chaperonas), la construcción de cepas deficientes de proteasas que prevenga la degradación y el mejoramiento de las condiciones de cultivo. Por otra parte, la búsqueda de nuevos y eficientes sistemas de purificación es una parte del proceso productivo a la que hoy en día se le está dando mayor atención.

Debido al costo de los procesos productivos, los biofármacos son costosos, y ello representa un problema para los pacientes, una fuente de inversión para las empresas farmacéuticas y un reto para la biotecnología farmacéutica. Por ejemplo, el tratamiento de vasculopatías puede requerir de una hasta 60 dosis de 15 a 60 mg cada dosis con un costo de entre 1,200 a 2,300 dólares. De igual forma, una dosis para el tratamiento de la artritis reumatoide (dos gramos de anticuerpo monoclonal) cuesta alrededor de 8000 dólares. Lo expuesto, subraya la importancia de las innovaciones que deben realizarse para mejorar la producción de PR a menor costo, manteniendo la calidad

para garantizar la salud de las personas.

Por todo lo anterior, en nuestro laboratorio desarrollamos actualmente una plataforma que nos permita expresar y producir anticuerpos monoclonales terapéuticos recombinantes, así como otras proteínas antigénicas y algunas enzimas con posibles usos terapéuticos. Además, estamos interesados en la comprensión de la biología de los diferentes hospederos que utilizamos, haciendo uso de herramientas como la transcriptómica, proteómica y las glicociencias para comprender las respuestas moleculares y fisiológicas que suceden durante la producción de PR. Estos estudios nos permitirán en un futuro, mejorar los procesos productivos de forma racional.

Agradecimientos: Dr. Tonatíuh Ramírez, M.C. Ramsés García, CONACYT 104951-Z, ICYT- DF, PAPPIT-UNAM IN-210013, IN-209113 

Bibliografía

- Brooks SA.** (2006) Protein glycosylation in diverse cell systems: implication for modifications and analysis of recombinant proteins. *Expert Rev. Proteomics*, 3 (3):345-359.
- Kao FT, Puck TT.** (1967) Genetics of somatic mammalian cells. IV. Properties of Chinese Hamster Cell mutants with respect to the requirement for praline. *Genetics*, 55:513-524.
- Köhler G, Milstein C.** (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 256:495-497.
- Pavlou A, Reichert JM.** (2004) Recombinant protein therapeutics--success rates, market trends and values to 2010. *Nature Biotechnology*, 22:1513-1519.
- Palomares LA, Estrada-Mondaca S, Ramírez OT.** (2004) Production of recombinant proteins: Challenges and solutions, in *Methods in Molecular Biology. Recombinant Gene Expression Protocols* (Balbás, P. and Lorence, A., eds.), Humana, Totowa, NJ, 267, 15-51.
- *La Merie Business Intelligence.** TOP 30 Biologics 2011. <http://www.pipelinereview.com/index.php/2011111546288/FREE-Reports/Blockbuster-Drugs-2010.html>



Grupo de la doctora Adriana Valdez

Browser Hijackers: secuestradores del navegador

Omar Rangel

Un tipo de *malware* (del inglés malicious y software) de apariencia "inofensiva" se ha vuelto común últimamente en las computadoras con sistemas operativos Windows. Los secuestradores del navegador o *browser hijackers* son programas malintencionados a manera de barras de herramientas como la barra de Google o Yahoo! que ofrecen funcionalidades adicionales para la navegación en internet pero esconden intenciones maliciosas; no se trata de programas de robo de datos o estafa, pero sí de herramientas que conducen a páginas que incurren en estos ilícitos, además de enlentecer considerablemente el funcionamiento de la computadora.

Es el caso concreto de Delta Search, Outrate.com y Babylon Search, cuyo objetivo es apoderarse del navegador y forzar al usuario a ver publicidad no deseada, utilizando ventanas emergentes, que aparecen sin control en la pantalla mostrando contenido para adultos o de juego en línea. En los casos de mayor agresividad, este malware puede falsear los resultados de búsquedas para conducir al usuario a sitios de estafa y de propagación de virus informáticos.

¿Cómo se instalan en el equipo?

Este tipo de malware es exclusivo de sistemas operativos Windows; por lo general se encuentra camuflado en sitios web que requieren de la instalación de un *plug-in* o complemento para poder visualizar un video o descargar algún archivo de interés para el usuario; también puede filtrarse al hacer la instalación de un software confiable pero descargado desde un sitio no oficial, ya que éste pudo

haber sido intervenido o puesto intencionalmente para propagar el *browser hijacker*. Otra forma como este malware se instala en nuestros equipos es por medio de las redes P2P (*peer to peer*), que involucran casi todos los tipos de *malware* conocidos debido a los tipos de contenidos apócrifos e ilegales que manejan.

¿Cómo eliminarlos?

Al tratarse de una aplicación que se instala de manera engañosa, es posible eliminarla de forma manual, ya que aparece en todos los listados del sistema como si fuera una aplicación válida e inofensiva. Para esto tendremos que dirigirnos al "Panel de Control", elegir la opción "Agregar o Quitar Programas" y desde ahí desinstalar la barra de herramientas que nos esté dando problemas. Posteriormente, en las opciones del navegador afectado

debemos eliminar el motor de búsqueda de la misma barra y seleccionar otro de nuestra preferencia; por último, cambiaremos la página de inicio. Si todo salió bien, ésta deberá permanecer sin problemas.

Prevención antes de corrección

Existen muchas herramientas automatizadas que eliminan éste y otros tipos de *malware* de nuestra computadora; algunos ejemplos son SuperAntiSpyware, Malwarebytes y AdwCleaner, los cuales representan una buena práctica si se ejecutan regularmente para eliminar cualquier clase de malware que haya podido instalarse sin que el usuario se percatara. 

Mayor información:
http://en.wikipedia.org/wiki/Browser_hijacking



"Los *scammers* o estafadores utilizan el *browser hijacking* para tomar el control del navegador de Internet de nuestros equipos y cambiar la forma y el contenido de lo que se muestra cuando navegamos por la web".
<https://traxarmstrong.com/google-chrome-and-internet-explorer-best-browsers-for-malware-protection-says-report/>

