

Como prueba de concepto

Proyecto exploró opciones de terapia génica para el tratamiento de enfermedades infecciosas

Olga Rivas Solano*
orivas@itcr.ac.cr

La Organización Mundial de la Salud (OMS)¹ define las enfermedades infecciosas como enfermedades causadas por microorganismos patógenos (como bacterias, virus, parásitos y hongos) que pueden diseminarse directa o indirectamente de una persona a otra, o bien, de un animal a una persona, como en el caso de las enfermedades zoonóticas.

En Costa Rica, según datos recopilados por la Organización Panamericana de la Salud (PAHO)² en 2008, la incidencia de enfermedades infecciosas como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y la tuberculosis fue respectivamente de 4,5 y 11,1 casos por cada 100 000 habitantes. El índice anual de enfermedades parasitarias fue de 10,1 casos por cada 1000 habitantes. Las muertes anuales registradas en menores de cinco años de edad a causa de infecciones respiratorias agudas e infecciones intestinales ascendieron a 3,5% y 1,2% respectivamente. La mortalidad a causa de diversas enfermedades infecciosas comunicables (por ejemplo ántrax, dengue, hepatitis, meningitis e influenza) fue de 16,96 por cada 100 000 habitantes.

Entre las principales herramientas para combatir las enfermedades infecciosas destacan las vacunas y los medicamentos antimicrobianos (antibióticos, antivirales, antifúngicos y antiparasitarios). De acuerdo con el Centro para Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC)³, el simple uso de los antimicrobianos conlleva al desarrollo de resistencia por parte de los microorganismos patógenos. Un factor que acelera la aparición

de esa resistencia es el hecho de que los antimicrobianos con frecuencia no se prescriben ni administran de forma óptima, ya sea porque el paciente realmente no los necesita, o bien, porque la dosificación y duración del tratamiento no son los correctos. Además, el uso de antimicrobianos en la agricultura (para el combate de plagas) y en la industria agropecuaria (como suplemento alimenticio para animales de granja) contribuye al surgimiento de la resistencia, con el agravante de que los microorganismos resistentes se pueden diseminar de persona a persona, o bien, desde reservorios no humanos hacia las personas.

Ante esta problemática, durante los años 2013 y 2014, un equipo de trabajo integrado por investigadores de la Universidad Nacional (UNA), la Universidad de Costa Rica (UCR), el Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC) y el Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC) recibió financiamiento del Consejo Nacional de Rectores (CONARE), por medio del Fondo Especial para la Educación Superior (FEES), con el fin de investigar, a manera de prueba de concepto, opciones de terapia génica para el tratamiento de enfermedades infecciosas. En el proyecto se eligió como modelo de investigación una bacteria intracelular zoonótica denominada *Brucella abortus*, la cual produce abortos e infertilidad en ganado bovino. Además, la bacteria es capaz de infectar al ser humano, causando una enfermedad conocida como fiebre de Malta^{4,5}. Para esta bacteria ya se habían descrito previamente algunos genes de virulencia, así como las proteínas

que normalmente regulan su expresión. Con base en esta información, se eligió un gen de virulencia ya conocido. Luego se diseñaron un total de 30 oligonucleótidos (fragmentos de ADN de tamaño pequeño) y se analizó, mediante diferentes técnicas, la afinidad de dichos oligonucleótidos por las proteínas reguladoras de los genes de virulencia.

Una de las técnicas utilizadas en el proyecto para tal propósito se denomina EMSA, por las siglas en inglés de “*Electroforetic Mobility Shift Assay*”, lo que en español se traduce como “ensayo de movilidad electroforética”. Esta técnica consiste en hacer migrar, a través de una matriz porosa y con ayuda de un campo eléctrico, las diferentes moléculas que se quieren estudiar. Generalmente, se evalúa primero cuál es la movilidad normal de la región reguladora del gen de virulencia. Para ello, el fragmento de ADN de la región reguladora se marca con una molécula reportera que permita luego su fácil detección en condiciones de laboratorio. Posteriormente se analiza cuál es el cambio que se presenta en la movilidad de la región reguladora cuando ésta interactúa con su respectivo regulador. Por último, se determina si al agregar a la mezcla anterior el oligonucleótido sin marcar, se puede restablecer la movilidad normal de la región reguladora. Si esto ocurre, significa que el oligonucleótido que se diseñó para competir con la región reguladora por el sitio de unión al regulador, tiene efectivamente esa capacidad. En la figura 1 se muestra un ejemplo del resultado esperado cuando se encuentra un oligonucleótido con capacidad de competencia.

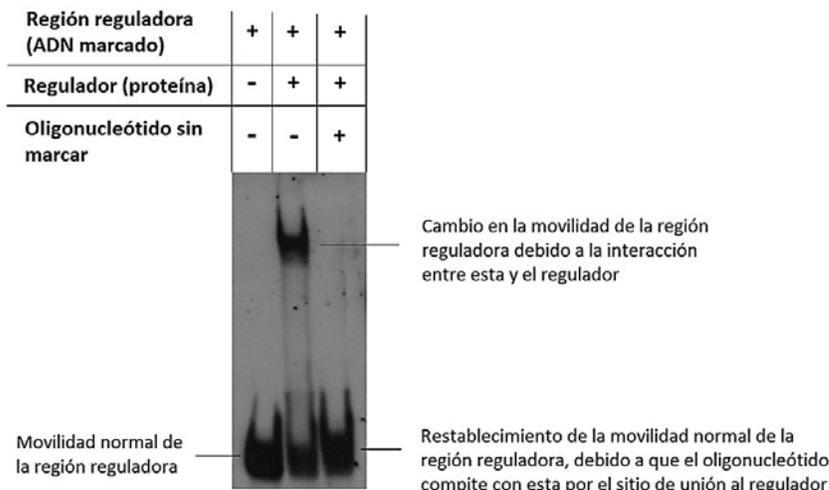


Figura 1. Ejemplo del resultado esperado cuando un oligonucleótido es capaz de competir con la región reguladora por el sitio de unión a una proteína reguladora de la expresión génica.



Como resultado de la investigación desarrollada, se encontraron en total cuatro oligonucleótidos con capacidad de competir con la proteína que normalmente regula la expresión del gen de virulencia estudiado. En otras palabras estos cuatro oligonucleótidos cuentan con potencial para ser usados como terapia génica en el combate de la infección causada por *B. abortus*, ya que pueden interferir con la expresión de genes de virulencia presentes en la bacteria, lo cual permitiría una eventual terapia génica de la infección. Sin embargo, aún queda mucho camino por recorrer para poder desarrollar una terapia génica que pueda ser efectiva para el tratamiento de las enfermedades infecciosas en general. Uno de los mayores retos consiste en encontrar una forma de hacer llegar estos oligonucleótidos al interior de la célula bacteriana, para que puedan ayudar a combatir la infección, es decir, para que puedan ejercer un efecto terapéutico. En el caso de *B. abortus*, es aún más complicado ya que se trata

de una bacteria intracelular, lo que significa que se aloja dentro de las células de su hospedero y esto complica el acceso del posible oligonucleótido terapéutico al sitio donde el microorganismo se encuentra causando infección.

El equipo de trabajo continúa realizando otros proyectos de investigación básica sobre temas afines a la regulación génica de la virulencia en *B. abortus*, con la expectativa de generar conocimiento que pueda, a futuro, ser aplicado al combate de esta y otras enfermedades infecciosas.

Referencias

- 1:http://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/ (recuperado el 10 de agosto 2015).
- 2:http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=3222&Itemid=2408 (recuperado el 10 de agosto 2015).
- 3:<http://www.cdc.gov/drugresistance/about.html> (recuperado el 11 de agosto 2015).

4:Corbel, M.J. (2006). *Brucellosis in humans and animals*. Genova: WHO Press.

5: Godfroid, J., Cloeckert, A., Liautard, J.P., Kohler, S., Fretin, D., Walravens, K., Garin-Bastuji, B. & Letesson, J.J. (2005). From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Vet Res*, 36(3), 313-326. ■

*Ingeniera en biotecnología y máster en microbiología. Estudiante del Programa de Doctorado en Ciencias de la Universidad de Costa Rica. Profesora de la carrera de Ingeniería en Biotecnología e investigadora del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB), Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. En la actualidad, la M.Sc. Rivas Solano se encuentra desarrollando su tesis doctoral en aspectos relacionados con el tema de este artículo.