

TESTIMONIO DEL JEFE DEL LABORATORIO DE BIOMEDICINA

Investigador hace un viaje al interior del virus AH1N1

El proyecto de la Espol tiene tres fases: el diagnóstico, el análisis molecular del virus y la generación de vacunas. La tarea la ejecuta un experto doctor nacional, entrenado en los EE.UU.

Washington Cárdenas Medranda
(Investigador y docente de la Espol)

Soy biólogo de profesión, magíster y doctor. Mi investigación post-doctoral fue en la parte molecular de virus como Ébola e Influenza A.

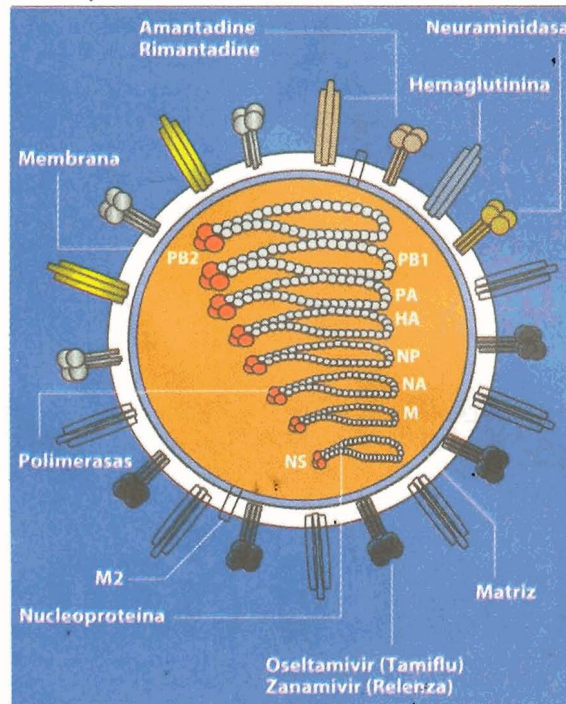
Hace dos años, la Espol me invito a formar parte de su planta docente y crear este Laboratorio de Biomedicina. Básicamente, queremos estudiar el virus de Influenza A porque es de una altísima importancia sanitaria, nacional y mundial.

Nuestro propósito es trabajar en tres áreas o fases: diagnóstico molecular, la epidemiología molecular, y la tercera, la generación de vacunas recombinantes. Las tres deben ir de la mano para hacer realmente un control efectivo de Influenza o comúnmente llamada gripe.

El diagnóstico es importante a pesar de que solo determina presencia o ausencia del virus. Nuestro interés es ir más allá y aislarlo, clonar su material genético, pues así se puede saber de dónde proviene cada uno de sus genes; y cómo muta mientras infecta a la población.

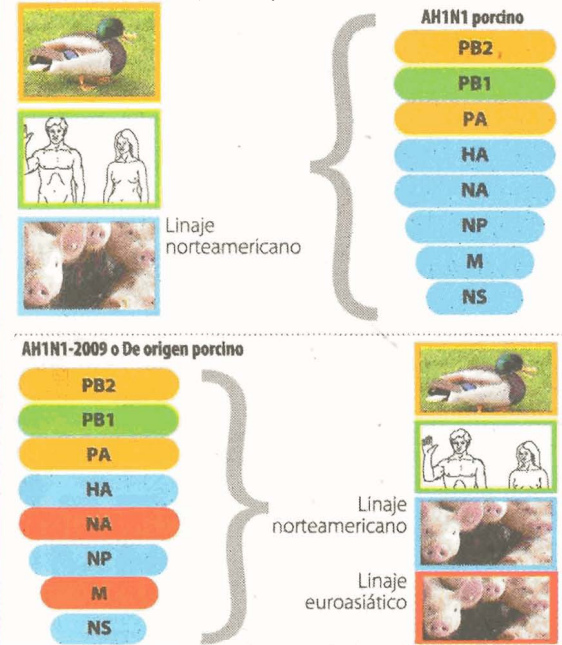
La tecnología no es nueva, pero hay que implementarla. Por ejemplo, se sabe que el virus está compuesto de ocho genes: dos de aves, uno humano

► Esquema del virus de Influenza A



Fuente: Laboratorio Biomedicina, Fimcm-Espol

Virus de Influenza AH1N1 porcino triple-recombinado que infectaba a humanos previo a pandemia actual



EXPRESO

GLOSARIO

- **NUCLEÓTIDO.** Molécula orgánica. Son los monómeros de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), en los cuales forman cadenas lineales de miles o millones.
- **GEN.** Conjunto de una secuencia determinada de nucleótidos, de uno de los lados de la escalera del cromosoma referenciado.
- **PLASMIDOS.** Vectores o moléculas de ADN.

porcino); estaba infectando gente, pero era de baja epidemiología. ¿Qué es lo que pasó? Que de alguna manera se introdujeron dos genes porcinos, pero no de América, sino de Eurasia, y se volvió contagioso

Además, esto es necesario porque el virus va a mutar. Y va a mutar porque nuestro propio sistema inmunológico se encarga de seleccionar a los virus más fuertes, a los que pueden infectarnos de modo eficiente. Así es la relación entre el patógeno y el huésped.

Y la única forma de detectar nuevas mutaciones es aislando el virus, sus genes y secuenciarlos. Ver el ordenamiento de cada uno de los nucleótidos y descubrir la mutación; que es causada por la presión del sistema inmunológico y los errores de las enzimas de replicación viral. Por ejemplo, los virus comunes de gripe humana estacionales son resistentes al Tamiflu. Igual que una bacteria se hace resistente a los antibióticos, igual pasará con el virus. Y la única manera de anticipar su siguiente paso es conocer lo que ocurre dentro del virus.

estacionales comunes. Y se obtuvo así un virus "inocuo".

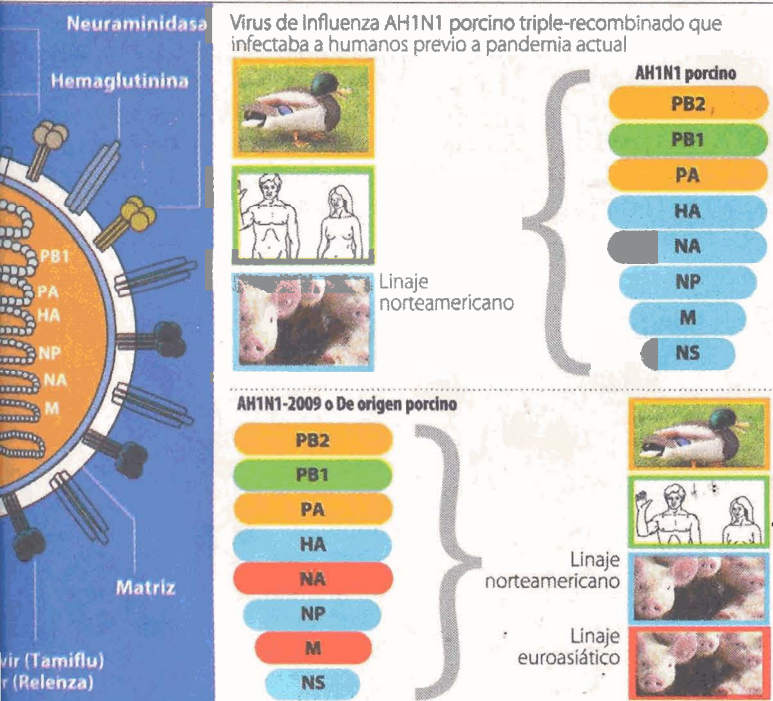
Esto se hace con la técnica conocida como "genética inversa". Consiste en colocar el material genético en plásmidos o vectores; esto se introduce en una célula, donde se recombinan los genes transcritos y sale un nuevo virus. Y es hecho a voluntad porque se pueden cambiar los genes y hacerlo más atenuado.

Dentro de lo que es el diagnóstico ofrecemos a la Espol un sistema mucho más barato de detección. Sale a alrededor de 15 ó 20 dólares por gen.

Debemos desarrollar esto para ir al siguiente paso, que es la clonación de todos los genes del virus. Eso es algo mucho más complejo, pues para tener una idea de la diferencia, para hacer un diagnóstico se utilizan apenas unos 200 nucleótidos o menos, pero el gen total

hace un viaje El virus AH1N1

Influenza A



GRUPE, MAL DE LAS AVES



PROCESO. Para reproducir el virus in vitro se utilizan huevos embrionados de pollos. Se les inyecta una muestra humana positiva de un diagnóstico y el virus comienza a crecer.

FOTOS: CORTESÍA ESPOL || EXPRESO



CADENA. El virus estacional provino originalmente de las aves, pasó de las acuáticas a las silvestres, de estas a las domésticas, de estas a los chanchos y de estos a los humanos.

Además, esto es necesario porque el virus va a mutar. Y va a mutar porque nuestro propio sistema inmunológico se encarga de seleccionar a los virus más fuertes, a los que pueden infectarnos de modo eficiente. Así es la relación entre el patógeno y el huésped.

Y la única forma de detectar nuevas mutaciones es aislando el virus, sus genes y secuenciarlos. Ver el ordenamiento de cada uno de los nucleótidos y descubrir la mutación; que es causada por la presión del sistema inmunológico y los errores de las enzimas de replicación viral. Por ejemplo, los virus comunes de gripe humana estacionales son resistentes al Tamiflu. Igual que una bacteria se hace resistente a los antibióticos, igual pasará con el virus. Y la única manera de anticipar su siguiente paso es conocer lo que ocurre dentro del virus.

estacionales comunes. Y se obtuvo así un virus "inocuo".

Esto se hace con la técnica conocida como "genética inversa". Consiste en colocar el material genético en plásmidos o vectores; esto se introduce en una célula, donde se recombinan los genes transcritos y sale un nuevo virus. Y es hecho a voluntad porque se pueden cambiar los genes y hacerlo más atenuado.

Dentro de lo que es el diagnóstico ofrecemos a la Espol un sistema mucho más barato de detección. Sale a alrededor de 15 ó 20 dólares por gen.

Debemos desarrollar esto para ir al siguiente paso, que es la clonación de todos los genes del virus. Eso es algo mucho más complejo, pues para tener una idea de la diferencia, para hacer un diagnóstico se utilizan apenas unos 200 nucleótidos o menos, pero el gen total



PUENTE. Según el doctor Walter Cárdenas, el chanco tiene receptor para virus de las aves y del ser humano. Es una especie de crisol para el virus, el puente entre aves y humanos.

de donde proviene cada uno de sus genes; y cómo muta mientras infecta a la población.

La tecnología no es nueva, pero hay que implementarla. Por ejemplo, se sabe que el virus está compuesto de ocho genes: dos de aves, uno humano y el resto porcinos. Y no por diagnóstico, sino que gracias al aislamiento del virus se pudo clonar sus genes y determinar de dónde provenía cada uno.

Así es esto. El trabajo es clonar y secuenciar todos los genes, que son aproximadamente 12.000 nucleótidos. Otros científicos del mundo han depositado secuencias en una base de datos internacional (NCBI). Con ellos se puede comparar y determinar si tal secuencia corresponde a uno de aves o de humanos. O si es de Asia, Europa o Australia.

El virus actual se detectó en abril, pero antes ya circulaba uno que era también triple recombinado (aves, humanos y

porcino); estaba infectando gente, pero era de baja epidemiología. ¿Qué es lo que pasó? Que de alguna manera se introdujeron dos genes porcinos, pero no de América, sino de Eurasia, y se volvió contagioso.

Pero a la vez, gracias a esos dos genes, que son la neuraminidasa y matriz, también se volvió susceptible al Tamiflu.

La manera de saber todo eso es con lo que estamos haciendo en la Espol, en colaboración con el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical, el organismo rector en el país de la investigación en salud.

► HOJA DE VIDA.

Guayaquileño, 42 años. Biólogo por la U. de Guayaquil; magíster y doctorado por la U. de Luisiana; posdoctorado en la U. de Nueva York y en el Centro Médico Monte Sinaí.

Los compases de gripe humana estacionales son resistentes al Tamiflu. Igual que una bacteria se hace resistente a los antibióticos, igual pasará con el virus. Y la única manera de anticipar su siguiente paso es conocer lo que ocurre dentro del virus.

Y eso también sirve para generar vacunas. Al descomponer el virus se lo puede volver a crear artificialmente y generar mutaciones a voluntad.

A la famosa gripe aviaria, que la causa el AH5N1, le hicieron una vacuna poniendo la parte externa de ese virus (hemaglutinina y neuraminidasa); y en la interna, genes de otros

para el siguiente paso, que es la clonación de todos los genes del virus. Eso es algo mucho más complejo, pues para tener una idea de la diferencia, para hacer un diagnóstico se utilizan apenas unos 200 nucleótidos o menos, pero el gen total puede tener alrededor de 1.800.

Trabajo en esto desde enero. Primero con el virus normal que también es AH1N1. A la cepa actual yo la llamo AH1N1-2009. Con ella trabajamos desde hace unos dos meses.

Hasta ahora he podido amplificar el gen de la hemaglutinina y estamos en proceso de ponerlos en plásmidos para mandarlos a secuenciar.

Pero para la fase de vacunas debemos implementar primero la tecnología de genética inversa. Esta fase requeriría el respectivo financiamiento. Lo que hemos hecho hasta ahora ha sido solo con lo que ha podido financiar la Espol y hasta allí podemos llegar. (NTB)

estacionales son resistentes al Tamiflu. Igual que una bacteria se hace resistente a los antibióticos, igual pasará con el virus. Y la única manera de anticipar su siguiente paso es conocer lo que ocurre dentro del virus.

Y eso también sirve para generar vacunas. Al descomponer el virus se lo puede volver a crear artificialmente y generar mutaciones a voluntad.

A la famosa gripe aviaria, que la causa el AH5N1, le hicieron una vacuna poniendo la parte externa de ese virus (hemaglutinina y neuraminidasa); y en la interna, genes de otros

la clonación de todos los genes del virus. Eso es algo mucho más complejo, pues para tener una idea de la diferencia, para hacer un diagnóstico se utilizan apenas unos 200 nucleótidos o menos, pero el gen total puede tener alrededor de 1.800.

Trabajo en esto desde enero. Primero con el virus normal que también es AH1N1. A la cepa actual yo la llamo AH1N1-2009. Con ella trabajamos desde hace unos dos meses.

Hasta ahora he podido amplificar el gen de la hemaglutinina y estamos en proceso de ponerlos en plasmidos para mandarlos a secuenciar.

Pero para la fase de vacunas debemos implementar primero la tecnología de genética inversa. Esta fase requeriría el respectivo financiamiento. Lo que hemos hecho hasta ahora ha sido solo con lo que ha podido financiar la Espol y hasta allí podemos llegar. (NTB)



PUNTE. Según el doctor Walter Cárdenas, el chancho tiene receptor para virus de las aves y del ser humano. Es una especie de crisol para el virus, el puente entre aves y humanos.

► Proyecto espera apoyo de la Senacyt para continuar

En el 2008 presentamos el proyecto a la Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología (Senacyt) y participamos en el concurso que hizo en mayo, sin éxito. Pero ahora se ha producido esta pandemia y la Senacyt nos ha pedido la propuesta para reconsiderarla. Estamos haciendo lo que podemos con lo que nos ha dado Espol, hasta ahora unos 15.000 dólares. Pero hasta allí vamos a llegar. No podemos ir a la genética inversa porque nos falta hacer repeticiones de los experimentos y comprobar cada paso.

Si tuviéramos todo el dinero, tomaría alrededor de un año clonar todos los genes y otro más establecer la tecnología de la combinación genética. Y de ahí podremos pensar en la generación de vacunas. Por supuesto, parece bastante tiempo para la emergencia que se vive. Pero si se hubiera pensado antes en lo necesario que es el estudio de la influenza, ya lo tendríamos ahora. Pero esto hay que hacerlo en algún momento y lo estamos haciendo ahora.

ños. Biólogo por la U. de
er y doctorado por la U. de
rado en la U. de Nueva
Médico Monte Sinaí.