

LOS INTERFERONES: UN MODELO PARA EL DESARROLLO DE LA BIOTECNOLOGÍA MODERNA EN CUBA

✎ José de la Fuente, Alberto Agraz, Luis Herrera y Marisel Quintana

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Apartado postal 6162,
Ciudad de La Habana, Cuba.

Los Orígenes

El interferón (IFN) fue descubierto en 1957 por Alick Isaacs y Jean Lindenmann como mediador de la interferencia con los virus animales.

Los IFNs fueron clasificados originalmente en leucocitario, fibroblastoide e inmune atendiendo a su origen celular, posteriormente fueron categorizados en Tipo I y Tipo II de acuerdo con su comportamiento en ácido (pH 2), calor (56 °C) y propiedades antigénicas. Los IFNs leucocitario, fibroblastoide y linfoblastoide fueron agrupados en el Tipo I por su estabilidad ante ácido y calor y el IFN inmune en Tipo II por su inestabilidad en estas condiciones. Finalmente, y debido a la heterogeneidad de las preparaciones de IFN, estos fueron clasificados en IFN α , β (Tipo I) o γ (Tipo II), basándose solamente en su antigenicidad.

El IFN α es la especie predominante producida por leucocitos estimulados por virus, mientras que los IFNs β y γ son producidos por fibroblastos o leucocitos inducidos con mitógenos o antígenos, respectivamente.

Los IFNs son sintetizados por células normales a niveles detectables cuando la síntesis es inducida. No obstante, existen evidencias de que ocurre expresión de IFNs Tipo I bajo condiciones fisiológicas. Después de la inducción son secretados y actúan localmente o son distribuidos por todo el cuerpo a través de la circulación sanguínea. Al interactuar con los receptores para IFN presentes en la superficie celular, desencadenan diferentes funciones biológicas que incluyen acción antiviral y microbiana, inhibición del crecimiento celular y tumoral, aumento y bloqueo de la producción de IFN, aumento de la toxicidad y funciones inmunorreguladoras.

El clonaje del IFN β fue reportado en 1979 por Taniguchi y colaboradores. En 1980 fue posible el clonaje del primer gen de IFN α : el IFN humano $\alpha 1$. Este clonaje se hizo en el laboratorio de C. Weissmann en Zurich. Utilizando el ADNc del IFN $\alpha 1$ como sonda para hibridización, un segundo IFN fue clonado, el IFN $\alpha 2$, distinto del IFN $\alpha 1$ en su estructura primaria y especificidad celular. Posteriormente se demostró la existencia de al menos otros 21 genes de IFN α . El gen del IFN γ humano fue clonado en 1981 por el grupo de D. Goeddel en Genentech (EE. UU.).

Desde su descubrimiento, los IFNs fueron catalogados como balas mágicas. Esta expectativa, aunque no se vio plenamente confirmada en la práctica sirvió para la introducción de estas moléculas en la clínica para el tratamiento de algunas afecciones virales y neoplasias, para el desarrollo de estudios de regulación génica en mamíferos empleando estos genes como modelo y para el surgimiento de modelos de desarrollo de la biotecnología moderna.

El Nacimiento

El desarrollo de la Ingeniería Genética en Cuba tiene sus antecedentes más directos en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) donde se encuentran los grupos de Genética Microbiana y de Biología Molecular del Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), en el cual, a partir de 1978 se comenzó a reorientar la formación de un grupo de investigadores para adquirir los conocimientos y crear condiciones a fin de efectuar un trabajo de Ingeniería Genética en nuestro país.

Ya en 1981 se comienza a obtener resultados metodológicos de base para el desarrollo de la Ingeniería Genética a pesar de la escasez de materiales existente en aquellos momentos, la cual trajo como consecuencia la necesidad, en ciertos casos, de purificar reactivos e incluso sintetizar algunos de ellos.

A principios de año se logra la primera transformación en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, lo cual amplió el campo de las investigaciones en el CIB y el CNIC. De igual forma se empieza con los preparativos para el aislamiento de genes de sus fuentes naturales. En marzo de ese año se monta el protocolo de extracción de ADN humano de leucocitos y unos meses más tarde se purifica por primera vez ARNm de globina, lográndose su ensayo de actividad biológica por inyección en oocitos de ranas *Xenopus laevis*. A finales del mismo año se estandarizan las electroforesis de ARN en agarosa-urea, el gradiente de sacarosa de ARNm de globina y se comienzan los primeros pasos de síntesis de ADNc.

Durante 1982 se realizan los primeros experimentos de marcaje de ARN con isótopos de yodo, síntesis exitosa de ADNc, *tailing* de ADNc de doble cadena de globina y se logra la purificación de más

R
e
p
o
r
t
e

E
s
p
e
c
i
a
l

de 1 000 unidades de la enzima Terminal transferasa (Tdt), incluyendo los ensayos para la determinación de endonucleasas y exonucleasas. En noviembre se sintetiza el primer oligonucleótido aplicando el método del triesterfosfórico en solución. Este fragmento de ADN de 15 bases se empleó en trabajos de identificación y aislamiento de clones productores de IFN α .

En 1983 se logra la purificación del ARNm del IFN leucocitario. El ARN de los leucocitos humanos fue extraído por el procedimiento de tiocianato de guanidinio y cloruro de guanidinio después de la inducción de estas células con IFN leucocitario y virus Sendai. A partir de aquí el ARNm poli-A fue obtenido por cromatografía sobre oligo (dT) celulosa y fraccionado entonces sobre Sephacryl (300, 500 y 1 000). La actividad del ARNm del IFN fue determinada en extractos de oocitos de *Xenopus laevis*. En el último trimestre se obtiene la primera biblioteca de ADNc a partir de la cual se comienza la búsqueda del gen del IFN $\alpha 2$.

En abril de 1984 comienza a aplicarse satisfactoriamente el procedimiento de síntesis de oligonucleóticos en fase sólida. La introducción de esta tecnología tuvo una gran repercusión en todo el desarrollo de las técnicas de Ingeniería Genética y por tanto en el avance de nuestros objetivos, dada la mayor eficiencia y productividad en el proceso que permitió la amplia difusión del uso a gran escala de estos pequeños fragmentos de ADN.

El gen del IFN $\alpha 2$ obtenido a partir de la biblioteca de ADNc fue clonado para su expresión bajo el control del promotor pr del bacteriófago λ de *Escherichia coli* en el plásmido vector pCQV-2. De esta forma se obtuvo en 1986 el plásmido pES-21, primera construcción genética con la que se logró la expresión de esta proteína en *E. coli* aunque a bajos niveles. No obstante este logro inicial en bacteria, el IFN $\alpha 2$ humano ya había sido expresado en *Saccharomyces cerevisiae* utilizando el sistema de secreción del factor α , lo que constituyó la primera expresión en levaduras en Cuba. Este resultado de noviembre de 1984 tuvo el inconveniente de que la proteína era obtenida en forma glicosilada y con dos aminoácidos adicionales en el extremo N de su secuencia.

El primero de julio de 1986 se inauguró el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) como continuación del trabajo desarrollado en el CIB.

En ese mismo año se logró la expresión de la proteína con su composición de aminoácidos correcta pero no fue posible eliminar la glicosilación del producto final. Esta vía fue desechada a pesar de su alto nivel de expresión.

Dada la eficiencia en la iniciación de la transcripción en *E. coli* del promotor ptrp del operón triptófano (trp) y nuestras primeras experiencias con la IL-2, el IFN β y γ , se trabajó a finales de 1986 y

El área de Investigación-Desarrollo (I/D) del CIGB ha ido abordando diferentes temas de trabajo hasta abarcar los más diversos campos en la biotecnología moderna.

El área de I/D está estructurada de la siguiente manera:

Divisiones de trabajo:

Farmacéuticos

Vacunas

Ensayos Preclínicos y Clínicos

Inmunotecnología y Diagnóstico

Plantas y Fertilizantes

Genética de Células de Mamíferos

Biotecnología Industrial

Química-Física

Grupos de trabajo:

Automatización

Desarrollo

Grupos multidisciplinarios de I/D - Producción - Control - Comercialización para el desarrollo de productos

principios de 1987 en el acoplamiento de este promotor a la construcción anterior (pES-21), formando un sistema genético en el cual el gen codificante era transcrito a partir de ambos sitios de iniciación colocados uno a continuación del otro. Con esta experiencia se logró aumentar ligeramente la expresión del IFN α aunque todavía a niveles bajos.

En 1987 se logró elevar los niveles de expresión del IFN α humano suficientemente como para hacer un proceso de purificación escalable y rentable. El gen codificante se clonó bajo el control del promotor único ptrp y da lugar al plásmido pTO-1, el cual fue mejorado al introducirle un fragmento portador de un terminador de la transcripción del bacteriófago T4 en el extremo 3' del gen (pAG 11-3). A partir de este plásmido comienza el desarrollo final del proceso actual de purificación a gran escala de esta proteína en el CIGB.

El Desarrollo

Paralelamente al desarrollo de estos trabajos continuaron el montaje de metodologías básicas en el laboratorio, como fue el caso de la secuenciación del ADN. En 1985 se estandarizó la secuenciación por el método de Sanger para ADN de simple cadena y un año más tarde la secuenciación de ADN de doble cadena, lo que hizo factible y fácil un chequeo verdaderamente riguroso de nuestras construcciones genéticas finales. Partiendo de esta posibilidad en 1987 se realizó la secuenciación del primer gen completo en nuestra institución: el IFN $\alpha 2$ humano. De igual forma, en este año se estandarizó la técnica de mutagénesis dirigida por oligonucleótidos, aplicada también al gen del IFN α humano.

Con el objetivo de continuar mejorando los niveles de expresión en bacteria, se realizó el clonaje del gen en otros sistemas ya probados en el IFN γ

humano bajo los controles de los promotores lpp-lac-trp y pL-T4 sin obtenerse los resultados esperados; eran evidentes las significativas diferencias entre ambos genes de IFNs con respecto a sus procesos de transcripción y traducción. Se demostró mediante la utilización de programas elaborados en el CIGB para el análisis de estructuras secundarias que la posible estructura adoptada por el ARNm del IFN $\alpha 2$ humano no favorecía su traducción por un involucramiento de las regiones Shine-Dalgarno y de inicio de la traducción en estructuras de doble cadena por hibridaciones internas de esta zona. Sin embargo, esto no ocurre en el caso del IFN γ humano.

El IFN fibroblástico humano o IFN β fue la primera molécula expresada en Cuba en un hospedero heterólogo a principios del año 1983. Para ello se partió del gen cromosomal del IFN β obtenido de una biblioteca humana en Charón 4-A y se clonó en un pUC8 para obtener la proteína expresada a partir del promotor lac de este plásmido (pCB-101). Esta expresión fue mejorada entre 10 y 50 veces bajo el promotor trp a la vez que se lograba la expresión de la proteína con la composición de aminoácidos correcta. Un aspecto importante de esta proteína es que al ser acoplada a un péptido señal, la actividad biológica obtenida (índice de expresión) fue cinco veces menor que sin esta región y sin ser exportada al espacio periplásmico, lo que parece resultar de un estacionamiento de la proteína en la membrana externa dada su alta hidrofobicidad. Esta proteína logró ser expresada hasta valores del orden de decenas de millones de unidades por mililitro de cultivo.

El IFN β humano fue además expresado a bajos niveles en *Bacillus subtilis* en un intento por lograr su secreción al medio de cultivo, aunque tampoco en éste pudo ser detectado. En 1987, este gen fue expresado también en células de mamíferos. Para ello se realizó una construcción en la que se introdujo el fragmento HincII del IFN β cromosomal humano bajo el control del promotor tardío mayor del adenovirus-2 (AdMLP) en el vector pAD23. Esta construcción (pAdBIF3) se transfectó y expresó en células CHO (dhfr-).

En el período comprendido entre 1984 y 1985 se trabajó en tratar de lograr la estabilidad del producto a fin de evitar la formación de dímeros, para lo cual se intentó infructuosamente cambiar la primera cisteína de la proteína, la cual no participa en enlaces disulfuros, por una serina mediante mutagénesis dirigida. Este trabajo fue detenido en 1986 debido a la aplicación cada vez menor del IFN β en relación, sobre todo, con los IFNs α y γ . En 1995 se retomaron los trabajos debido a la aprobación del IFN β para el tratamiento de la esclerosis múltiple.

El clonaje inicial del IFN γ se realizó a finales de 1985 a partir de una librería de ADNc en pUC9. El gen se inserta posteriormente bajo el control del promotor pL en el vector de expresión pAT12 y fi-

La estrategia de trabajo en I/D del CIGB está encaminada a consolidar la posición del CIGB en las diferentes áreas mediante:

- **Proyectos que garanticen el perfeccionamiento de los productos líderes.**
- **Proyectos nuevos que aseguren la permanencia del CIGB en los mercados de las áreas identificadas como prioridad.**
- **Desarrollo de tecnologías que sean fácilmente aplicables a otros objetivos de trabajo. Buscar liderazgo en algunas de estas tecnologías (ejemplo: transgénesis, expresión en levadura).**
- **Búsqueda de proyectos con mayor originalidad y posibilidades de patente, para lograr un balance entre componentes de investigación básica y aplicada y entre proyectos a corto y largo plazo.**
- **Desarrollar la capacidad necesaria a fin de incorporar el conocimiento mundial en las áreas de trabajo del CIGB.**
- **Garantizar el desarrollo paralelo de todas las áreas con sus particularidades y enfoques de mercado.**
- **Utilización de grupos de I/D, Producción, Control, Comercialización para seguir los productos una vez que entren en las etapas finales de desarrollo (fases experimental-clínica) para buscar rapidez en el alcance del resultado final.**
- **Identificar, financiar y atender de manera diferenciada los proyectos priorizados.**
- **Analizar las debilidades e instrumentar medidas que conduzcan a su solución.**

nalmente bajo el ptrp; primero sin la utilización de terminadores de la transcripción y posteriormente introduciendo este, para dar lugar al plásmido conocido como pt5T5, con un nivel de expresión de más del 10 % de la proteína total de la bacteria. En 1987 se clona este gen en el sistema lpp-lac de Inouye conjuntamente con el promotor ptrp y se eleva la expresión por encima del 20 % de la proteína total. Posteriormente se utiliza el sistema pL-T4 y se obtiene un nivel de expresión similar al anterior.

A finales de 1986 se logra por primera vez en los laboratorios del CIGB la purificación del IFN $\alpha 2$ recombinante a partir del plásmido pES-21 en *E. coli* el cual expresaba la proteína intracelularmente y de forma insoluble. Este proceso inicial y la construcción genética fueron mejorados, hasta la estandarización del proceso actual.

En febrero de 1988, se purifica a partir de *E. coli* y por primera vez, el IFN γ humano (expresado intracelularmente en forma de cuerpos de inclusión). Para esto se utilizó un procedimiento similar al empleado en el caso del IFN α aunque sin el empleo de cromatografía de inmunoafinidad. Al no presentar puentes disulfuros esta proteína, su proceso de renaturalización y por tanto su purificación son más sencillos.

Entre agosto y octubre de 1987 se presentan los resultados de toda la caracterización del IFN $\alpha 2$ humano recombinante, en la cual se incluyó la verificación completa de toda la secuencia y la presencia de los puentes disulfuros correctos de la proteína mediante espectrometría de masa y la secuenciación completa por degradación de Edman. En febrero de

1988 se caracteriza el IFN γ humano recombinante por la misma técnica. En la actualidad se continúan los trabajos de mejoramiento tanto de la expresión como del proceso de purificación de los IFNs $\alpha 2$ y γ humanos, ya sea en bacterias o en levaduras.

La aplicación clínica de estas moléculas y especialmente del IFN α ha sido siempre un objetivo de trabajo y los centros de investigación de Cuba han acumulado una gran experiencia en el uso terapéutico de los IFNs.

Desde 1986, investigadores del CIGB han realizado también valiosos aportes al estudio de la regulación de la expresión de los IFNs α y β en estrecha colaboración con los mejores grupos del mundo en esta temática.

La Producción

Ya desde los primeros años de vida del CIGB, la actividad productiva estuvo presente como una necesidad para la salida comercial de los productos recombinantes que se desarrollaban en sus laboratorios.

Los inicios de esta actividad tienen un antecedente: el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB). Allí se producía desde 1981 IFN humano leucocitario. Esta producción se llevó a gran escala a partir de donaciones de sangre.

En su concepción inicial, el CIGB no contaba con una unidad productiva, sino con una unidad piloto, dedicada al desarrollo y estudios de escalado de las futuras producciones. La necesidad de salida rápida de producto hizo que esta concepción se modificara y se contara en 1987 con una Unidad Productiva para la obtención de IFN α humano recombinante procedente de *E. coli*.

A partir de esta primera unidad se siguió el proceso de remodelación y preparación de nuevas unidades. Actualmente, el CIGB cuenta con cuatro unidades productivas situadas en el edificio que fuera la unidad piloto con una capacidad fermentativa de 6 000 L. Estas divisiones productivas se dedican fundamentalmente a la fabricación de ingredientes activos que son formulados y envasados en unidades del Centro Nacional de Biopreparados (CNB) y de la Industria Médico-Farmacéutica (IMEFA). Además se construyeron tres nuevas unidades de producción, una de las cuales se encuentra en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Camagüey, con una capacidad fermentativa de 500 L. En este último se produce la vacuna contra la colibacilosis porcina (VACOLI).

El producto pionero de la industria biofarmacéutica recombinante cubana fue el IFN $\alpha 2b$ humano recombinante, producido a escala de laboratorio en el CIB a partir de 1986 y más tarde a escala industrial en el CIGB. Esta proteína fue el resultado del esfuerzo de un grupo de jóvenes científicos y técnicos del CIB, quienes trabajaron consagradamente

El CIGB tiene en el presente más de 250 investigadores en I/D. Actualmente alcanza más de 30 logros en I/D por año y alrededor de 0,5 publicaciones/investigador/año. El CIGB tiene aproximadamente 200 patentes solicitadas en todo el mundo y más de 100 otorgadas. Como resultado del trabajo de I/D integrado con las otras áreas del CIGB se lograron 78 registros otorgados entre 1994 y 1995, con más de 70 productos en venta.

En el CIGB se aborda la expresión de proteínas recombinantes en diferentes sistemas hospederos y en las siguientes áreas: farmacéuticos, vacunas, plantas, animales, diagnósticos e industria. Tiene como línea de trabajo fundamental el empleo de la Ingeniería Genética en todas las áreas señaladas, incorporando elementos de caracterización de productos naturales (por ejemplo, el Factor de Transferencia) y estructura e ingeniería de proteínas para el diseño de péptidos y moléculas sintéticas.

Las áreas con más desarrollo son las de farmacéuticos y vacunas debido a que tienen más trabajo y recursos invertidos en ellas. Las otras áreas son de más reciente surgimiento y se han venido desarrollando con rapidez.

tras un objetivo: demostrar las potencialidades y posibilidades de la Ingeniería Genética y la Biotecnología para nuestro país.

A partir del establecimiento de esta primera producción recombinante se logran las que incluyen vacunas, factores de crecimiento, linfoquinas, anticuerpos monoclonales, enzimas de restricción/modificación y juegos diagnósticos entre otras (Tabla 1).

Actualmente la Subdirección de Producción de Biofarmacéuticos y Veterinarios cuenta con una estructura técnico-organizativa así como con un personal altamente calificado con experiencia en producciones biotecnológicas y biofarmacéuticas.

Esta Subdirección tiene más de 380 trabajadores distribuidos entre 15 Divisiones que a su vez producen nueve proteínas recombinantes para uso farmacéutico humano y veterinario, dos proteínas naturales para uso farmacéutico, más de 25 enzimas de restricción/modificación, más de 30 anticuerpos monoclonales para uso en inmunopurificación. Además cuenta con personal especializado en desarrollo de proyectos ingenieros para la instalación y validación de plantas biotecnológicas.

Además de las diferentes divisiones de producción se encuentran otras como la División de Control de Procesos (centraliza la actividad analítica necesaria para el control de las diferentes unidades productivas), la División de Formulación y Envase (asegura toda la actividad relacionada con la etapa final de formulación, envase y embalaje de todos los productos), la División de Ingeniería, (garantiza la operación de la Planta de Producción y elabora los proyectos técnicos), la División de Validación (proyecta y realiza toda la actividad de validación de procesos de las diferentes unidades), y la División

Tabla 1. *Proteínas producidas en el CIGB.*

Producto	Proteína	Fuente	Comienzo	Uso
Heberon α N *	Interferón α natural	Leucocitos humanos	1981	Humano-inyectable: Tratamiento de infecciones virales: virus papiloma humano, hepatitis viral B y C, herpes zóster, VIH. Neoplasias malignas, tumores sólidos, etc.
Enzimas de Restricción/Modificación *	Diferentes enzimas	Diferentes cepas	1985	Para uso en Biología Molecular
Hebertrans *	Factor de transferencia (extracto dializable de leucocitos)	Leucocitos humanos	1986	Humano-inyectable: Tratamiento de individuos con inmunodeficiencia celular, Herpes zóster, Herpes simple, niños con infección herpética mucocutánea recidivante e inmunodeficiencia celular, queratitis herpética, ataxia telangiectasia, etc. Enfermedades de origen alérgico o autoinmune
Heberon α R	Interferón α 2b recombinante	<i>E. coli</i>	1987	Humano-inyectable: Tratamiento de infecciones virales, neoplasias malignas, tumores sólidos, etc.
Anticuerpos monoclonales	Diferentes AcMs	Hibridomas murinos	1987	Ligando para la inmunopurificación de IFN y HBsAg. AcMs para juegos diagnósticos
Juegos diagnósticos	Antígenos recombinantes	<i>E. coli</i> y otras	1987	Para uso en juegos diagnósticos
Hebermin	Factor de crecimiento epidérmico recombinante	<i>S. cerevisiae</i>	1987	Humano-uso tópico: Tratamiento de quemaduras, úlceras y lesiones de radioterapia
Heberkinasa	Estreptoquinasa recombinante	<i>E. coli</i>	1991	Humano-inyectable: Tratamiento del infarto agudo de miocardio, trombosis venosa profunda, embolia pulmonar, oclusión arterial, etc.
Heberbiovac HB	Antígeno de superficie del VHB recombinante. (HBsAg-r)	<i>P. pastoris</i>	1991	Humano-inyectable: Vacuna para la inmunización activa contra la infección producida por el virus de la hepatitis B (VHB)
Gavac	Antígeno Bm86 recombinante (membrana intestinal del <i>B. microplus</i>)	<i>P. pastoris</i>	1993	Veterinario-inyectable: Vacuna para la inmunización activa de los bovinos contra la garrapata <i>B. microplus</i>
Vacoli	Antígenos K88ab y K99 recombinantes	<i>E. coli</i>	1993	Veterinario-inyectable: Vacuna para la inmunización activa y pasiva contra la colibacilosis porcina, de lechones lactantes y recién destetados
Interleukina-2	Interleukina-2 recombinante	<i>E. coli</i>	1995	Humano-inyectable: Tratamiento del cáncer

* Producciones que comenzaron en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB)

de Desarrollo Biofarmacéutico (realiza los trabajos de escalado, implementación productiva, validación, entre otros, de los nuevos productos que están en fase final de Investigación/Desarrollo (I/D) y entran en la fase de explotación comercial).

Además de la Planta de Producción de Biofarmacéuticos y Veterinarios, existe una unidad de Producción de Inmunorreactivos y Juegos Diagnósticos.

En los primeros años del comienzo de la actividad productiva existía un Laboratorio de Control de Calidad bajo la dirección de Producción y su función era controlar analíticamente el proceso y los productos finales que salían de la planta. A partir de

1990 se crea la Subdirección de Calidad independiente de la División de Producción, con el objetivo de certificar la calidad de los productos. De esta forma se comienza la implantación de Buenas Prácticas de Producción (BPP) y Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) para los procesos establecidos y un entrenamiento riguroso de todo el personal comprometido con el área productiva.

Esta Subdirección está formada por la División Analítica (están incluidos el desarrollo de los materiales de referencia, la validación de los métodos analíticos y el desarrollo de los estudios de estabilidad) y la División de Aseguramiento de la Calidad

con la tarea de preparar e impartir cursos de entrenamiento para todo el personal relacionados con BPP, BPL, Sistema de Calidad, ISO 9000, etc. Además realizó la confección del Manual de Calidad y el trabajo de implantación de un sistema de calidad de acuerdo con las Normas Internacionales de la serie ISO 9000. Durante estos años se ha trabajado en la calibración y el control de los medios de medición, inspecciones y auditorías, así como en el tratamiento de las no conformidades.

La División Analítica está compuesta por los Departamentos de Inmunoquímica, Ensayos Biológicos I, Ensayos Biológicos II, Microbiología, Biología Molecular, Cromatografía, Electroforesis, Análisis Químico, Sistemas Críticos, Recepción y Manipulación de Muestras y Desarrollo de Técnicas Analíticas. La División de Aseguramiento de Calidad está formada por los Departamentos de Inspección y Auditoría, Seguridad Ocupacional, Ingeniería de Calidad, Documentación de Registros y Regulaciones, Liberación, Metrología y Validación.

La incorporación de estas divisiones ha ayudado a pasar satisfactoriamente las inspecciones realizadas a cuatro de nuestros principales productos: (Heberbiovac HB (vacuna recombinante contra la hepatitis viral tipo B), Heberon α R (IFN α 2), Heberkinasa y Hebermin) por el Centro Estatal para el Control de los Medicamentos (CECMED), autoridades sanitarias de Rusia en 1991 y Argentina en 1993, además de las realizadas por Irán y México para la vacuna Heberbiovac HB. De esta forma los productos del CIGB han sido evaluados por comisiones de diferentes países que han comprobado su calidad. Además, han sido ampliamente utilizados tanto en Cuba como en el extranjero. Los volúmenes de exportación son fundamentalmente a países de América Latina, Asia, Medio Oriente y Europa Oriental. Estos son comercializados por la empresa Heber Biotec S.A.

Por ejemplo, en el caso de los IFNs, todas las aplicaciones descritas mundialmente para este producto han sido probadas en pacientes cubanos, e inclusive, se han tratado enfermedades por primera vez en nuestro país como por ejemplo el virus del dengue, el virus de papilomas y la esquizofrenia. Durante 1981, el IFN leucocitario (Heberon α N) fue utilizado ampliamente para el tratamiento de las epidemias de dengue hemorrágico y conjuntivitis hemorrágica.

En el caso del tratamiento de las hepatitis B fulminantes se pudo demostrar que el IFN, tanto natural como recombinante, sirvió para disminuir los casos de muerte y aumentar la prognosis de los casos crónicos. Actualmente se usa uniformemente en el tratamiento de los casos de hepatitis B en todo el país.

En nuestro país el IFN ofreció un nueva expectativa a los enfermos de papilomatosis laríngea, una enfermedad que afecta principalmente a niños y cuyo único tratamiento era la intervención quirúrgica

continua, inclusive, con necesidad de traqueostomías. El tratamiento con IFN hace controlable esta enfermedad. Desde 1983 nuestro sistema de salud cuenta con un programa nacional para su tratamiento.

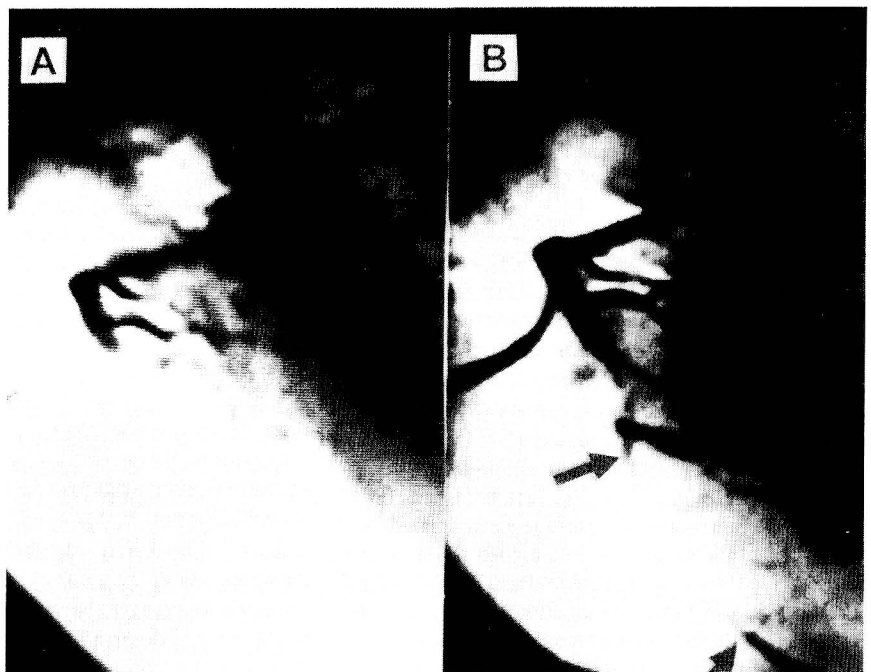
Actualmente se desarrollan protocolos de estudios clínicos con IFN en pacientes portadores del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Algunos resultados demuestran retardo en la aparición del Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), así como disminución de infecciones oportunistas. También ha sido utilizado ampliamente en neoplasias de diferente índole como por ejemplo, en el tratamiento de sarcoma de Kaposi, cáncer de páncreas, de esófago, de colon, entre otros.

En total hasta 1993 se habían tratado con IFN más de 1 500 casos en estudios clínicos documentados. Hoy, un número mucho mayor de enfermos en nuestro país ha recibido IFN como tratamiento.

El trabajo con los IFNs permitió formar un grupo de investigadores capaces de desarrollar todo el proceso investigativo desde el laboratorio hasta la introducción clínica empleando las más modernas técnicas de Ingeniería Genética y Biología Molecular. Los IFNs fueron nuestro modelo de desarrollo y el primer éxito.

Otro de nuestros productos importantes es la estreptoquinasa recombinante. Este producto antitrombótico sirve para el tratamiento del infarto, principal causa de muerte en Cuba y otros países. La estreptoquinasa ha demostrado la reducción de la mortalidad aproximadamente en un 23 % de los pacientes que la usan. Actualmente su uso se ha extendido nacionalmente a 52 hospitales y se ha utilizado en más de 3 000 pacientes (Figura 1).

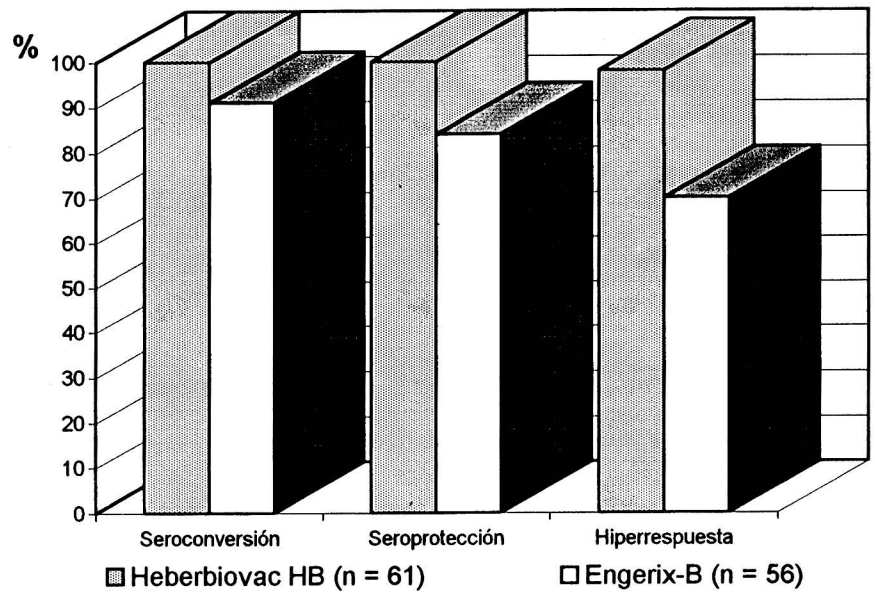
Figura 1. Coronografía que muestra: A) Obstrucción completa de la arteria coronaria antes de la infusión de la Heberkinasa, B) Recanalización de la arteria después de 30 min de administración de Heberkinasa.



La vacuna contra la hepatitis B recombinante (con calidad demostrada), es nuestro principal producto (Figura 2) y ha sido utilizada ampliamente tanto en otros países como en los programas nacionales de inmunización. Desde principios de 1994 se vacunan gratuitamente todos los recién nacidos en Cuba, además de otros grupos de riesgo (experiencia única en el mundo). También se ha elaborado un extenso programa de vacunación hasta el año 2000, lo cual garantizaría tener vacunada para esa fecha toda la población menor de 20 años; ello constituiría un nuevo ejemplo de la calidad de salud y vida en nuestro país. Es interesante el dato de que la prevalencia de la enfermedad en la población cubana es de aproximadamente 1,5 %. Estudios han demostrado que si esta vacuna se adquiriera a precio de mercado, el costo de la campaña no sería menor de 150 millones de dólares.

El país había depositado su confianza en el desarrollo de la Biotecnología como una opción para el desarrollo médico-farmacéutico y económico de Cuba. Los resultados de estos 10 años de existencia del CIGB no han defraudado estas expectativas.

Figura 2. Resultados de inmunogenicidad de la vacuna recombinante contra la hepatitis B (Heberbiovac HB), utilizando como control una vacuna comercial. (Juliao O, et al. *Biomédica* 1991; 11, No. 1-4).



REX-100

Consola Digital para Radiología Dinámica

- Sistema digital de novedosa tecnología que le permite su conexión a equipos de Rayos-X con central de TV de diferentes modelos y fabricantes. Concebido para mejorar la calidad diagnóstica y modernizar, al mismo tiempo, el equipamiento ya en explotación al más bajo costo del mercado.
- La adquisición digital de estudios radiológicos en tiempo real que permite el **REX-100**, posibilita la obtención de imágenes con excelente calidad diagnóstica, que pueden ser utilizadas con posterioridad en el análisis dinámico de trastornos funcionales, algo muy difícil de representar en una imagen estática.
- Toda la información adquirida por la Consola (datos del paciente y estudios radiológicos) es almacenada en una base de datos relacional, lo que facilita el rápido acceso a la misma.
- **REX-100** cuenta con técnicas del Procesamiento Digital de Imágenes que permiten resaltar detalles que no son visibles a simple vista o que se aprecian con dificultad.
- Las imágenes representativas de las patologías estudiadas, una vez procesadas digitalmente, pueden ser almacenadas en disquetes como parte de un archivo digital.
- **REX-100** se aplica en todos los estudios radiológicos dinámicos contrastados tales como: estudios del Tracto Gastrointestinal Superior (Esófago, Estómago y Duodeno), las Colangiografías, Fistulografías, Histerosalpingografías, Cistografías y Mielografías entre otros. Además se pueden realizar estudios de Angiografía por Substracción Digital (ASD) que no requieran del procesamiento digital en tiempo real.



Centro de Robótica y Software

Calle 24 #408 Vedado, C. Habana, Cuba. Telf. (537) 30-9913, 30-9916; Fax (537) 33-3181; email: eicisoft@ceniai.cu