

Virus emergentes y autodiagnóstico



El autor de este artículo describe los virus como partículas fundamentales que han contribuido a formar la vida tal y como la conocemos, y destaca el hecho de que infecciones causadas por virus ancestrales nos permiten disponer en la actualidad de herramientas genéticas potentes, como los sistemas CRISPR, para la detección personal de SARS-CoV-2.

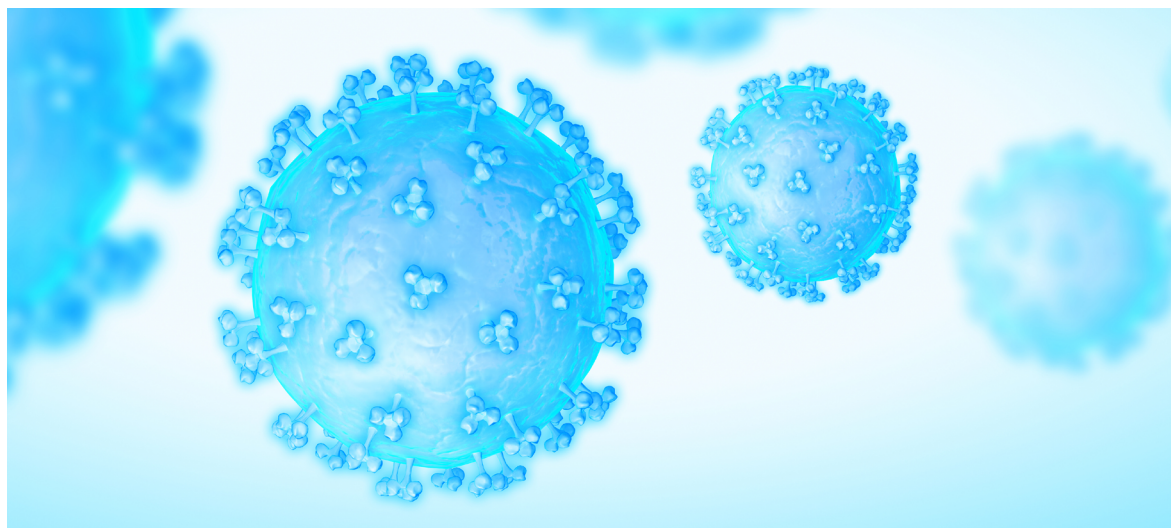
Guillermo Rodrigo Tárrega

Científico titular en el Instituto de Biología Integrativa de Sistemas (I²SysBio)

Línea^{FGCSIC}
COVID

Las infecciones virales representan una amenaza importante en nuestra sociedad global, no solo porque algunos virus (establecidos o emergentes) pueden comprometer enormemente la salud humana, sino porque otros ponen en peligro la producción agrícola y ganadera intensiva, con especial relevancia en el actual escenario de cambio climático. Según datos de la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades infecciosas representan aproximadamente un 25% del total de muertes de personas en el mundo. En este grupo se engloban tanto las infecciones por virus (por ejemplo, la gripe) como por bacterias (por ejemplo, la tuberculosis). Este porcentaje se incrementa sustancialmente si nos circunscribimos a países subdesarrollados o en vías de desarrollo.

Pero no hay que olvidar que las plantas y los animales también se ven afectados por infecciones virales, las cuales pueden desencadenar grandes pérdidas en el sector agropecuario, amén de comprometer el suministro de alimentos a escala mundial. De hecho, el primer virus que se descubrió, a finales del siglo



XIX, fue en plantas (a saber, el virus del mosaico del tabaco). Este descubrimiento estuvo motivado por las grandes pérdidas ocasionadas en las plantaciones de tabaco de los Países Bajos por la acción de este agente infeccioso.

El actual contexto de pandemia, provocado por la rápida expansión del nuevo coronavirus SARS-CoV-2 (prácticamente a todos los países del Globo) y la enfermedad que provoca (COVID-19), ha puesto de manifiesto esta amenaza. En España, durante el año 2020 ha habido un exceso de casi 70.000 muertes, según

datos del sistema de monitorización de mortalidad del Instituto de Salud Carlos III, que se achacan directa o indirectamente a la COVID-19. Este contexto ha revelado más que nunca la necesidad de invertir en ciencia para desarrollar nuevas vacunas, nuevos medicamentos antivirales y nuevos métodos de diagnóstico. Ciertamente, estos son los tres pilares sobre los que se asienta la recuperación y que habrá que reforzar considerablemente para hacer frente a futuros virus que muy probablemente pondrán en jaque de nuevo a nuestra sociedad.

Una amenaza de muerte recurrente consustancial a la vida

La epidemia de SARS-CoV-2 ha reavivado en muchos foros el largo debate sobre si los virus están vivos o no. En ausencia de un metabolismo propio para transformar la materia y la energía, pero con un material genético compartimentado sujeto a evolución darwiniana, los virus se encuentran en la frontera entre la materia inerte y la viva. Sin embargo, debido a que la pregunta está mal definida, encontramos respuestas para todos los gustos. Los virus son consustanciales a cualquier célula viva, potentes impulsores evolutivos y, ciertamente, más que meras máquinas moleculares.

Deberíamos considerar la vida como un universo y no como una cualidad de una sustancia determinada. De hecho, como un universo basado en la bioquímica que tiene sus propias leyes mecánicas para estar en continua transformación y que está construido a partir de diferentes partículas reproductivas fundamentales.

Vacunas, nuevos medicamentos antivirales y nuevos métodos de diagnóstico son los tres pilares sobre los que se asienta la recuperación y que habrá que reforzar para hacer frente a futuros virus

Pasemos entonces de cuestionar si los virus están vivos o no a si los virus son partículas fundamentales dentro del universo de la vida. En otras palabras, ¿podrían haber aparecido y evolucionado reproductores autónomos parecidos a las actuales células en ausencia de reproductores parasitarios parecidos a los actuales virus? Probablemente no.

El universo físico es un ejemplo de integración de partículas fundamentales de diferente naturaleza, en el que también prevaleció una dicotomía durante mucho tiempo. De hecho, la luz se consideraba separada de la materia antes de su reconciliación con los primeros principios físicos cuánticos y relativistas. Como resultado de un modelo de física de partículas, ahora nos damos cuenta de que la existencia de fotones (partículas sin masa responsables de la radiación

electromagnética) no es independiente de la existencia de otras partículas con masa. Partículas muy diferentes pueden interactuar entre ellas bajo un marco común en el que la dicotomía entre partículas de fuerza y materia es fundamental.

No obstante, las partículas en el universo de la vida han cambiado con el tiempo, lo que ha llevado a encontrar en la naturaleza una amplia paleta de reproductores (por ejemplo, desde viroides hasta virus gigantes en el caso de los parásitos). Esto ciertamente dificulta la reconstrucción de una imagen adecuada sobre el origen de la vida. A pesar de ello, la creciente evidencia basada en experimentos de biología molecular y genómica sugiere la necesidad de contar con los virus para describir la vida.

Por tanto, si asumimos que los virus han estado y estarán siempre, no es difícil anticipar que el problema actual será recurrente. Es posible que no conozcamos más del 1% de todos los virus que inundan nuestro planeta y se estima que existen muchas más partículas virales que células vivas. Prácticamente, para cada organismo autónomo podríamos encontrar virus capaces de infectarlo. Hay que tener en cuenta, no obstante, que no todos ellos provocan malas consecuencias para el organismo infectado. Pero, ciertamente, esta distribución hace que la emergencia de nuevos virus (o nuevas cepas de virus establecidos) sea insalvable.

Los virus del pasado nos ayudan a combatir los virus del presente

El material genético que vemos en la actualidad en la naturaleza es el resultado de millones de años de evolución. Que los virus sean potentes impulsores evolutivos significa que los genomas de los organismos a los que infectan (sus cadenas de ADN) se han visto significativamente modificados como consecuencia de tales infecciones. Esta modificación ocurre, en primer lugar, porque el material genético de los virus, en parte o en su totalidad, puede integrarse en el genoma de los

organismos infectados. Y, en segundo lugar, porque en el genoma de los organismos una serie de mecanismos genéticos evolucionan para dar respuesta a las infecciones.

Desde un punto de vista biotecnológico, todas las partículas del universo de la vida son reservorios de material genético funcional y altamente innovador que es susceptible de ser reaprovechado en beneficio propio. Las técnicas de biología molecular hacen posible que podamos explotar dicho material, tanto de virus como de células. Por ejemplo, podemos usar otros virus como andamiajes para el desarrollo de nuevas vacunas. Podemos



Guillermo Rodrigo Tárrega

Doctor Ingeniero Industrial por la Universidad Politécnica de Valencia (2011), su tesis doctoral versó sobre la aplicación de métodos computacionales para analizar redes genéticas y diseñar circuitos sintéticos. Participó en el primer equipo nacional iGEM y en el programa europeo de supercomputación (HPC-Europa) y realizó una estancia en el Massachusetts Institute of Technology (MIT). Siguió su carrera postdoctoral en el Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) en París, primero con una beca EMBO y luego como investigador de la Fundación AXA, llevando a cabo investigaciones biotecnológicas con moléculas de ARN con capacidad reguladora. Desde 2014, es científico titular del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y dirige el grupo de Diseño de Biosistemas en el Instituto de Biología Integrativa de Sistemas (I²SysBio), con carácter multidisciplinar, donde se abordan problemas desde una perspectiva dual de biología de sistemas y biología sintética, combinando teoría y experimentos.

también reciclar sistemas antivirales evolucionados en organismos tan simples como las bacterias. Como muestra, las arquitecturas CRISPR (por las siglas en inglés de repeticiones palindrómicas cortas, agrupadas y regularmente interespaciadas) evolucionaron en muchas bacterias y arqueas (microorganismos unicelulares) como sistemas inmunes adaptativos en respuesta a infecciones virales ancestrales. Poéticamente, aquellos virus del pasado esculpieron herramientas genéticas que hoy, millones de años después, son de gran utilidad.

Los sistemas CRISPR están revolucionando la biomedicina puesto que permiten nuevas aplicaciones terapéuticas y diagnósticas. Fue en los años 90 cuando la presencia de estas repeticiones tan singulares se observó por primera vez en el genoma de

arqueas halófilas que crecían en la costa mediterránea española (concretamente, en Alicante), proporcionando al mismo tiempo una visión funcional aproximada sobre tales repeticiones. En ese momento, sin embargo, era difícil anticipar la revolución que llegaría casi dos décadas después, gracias a la capacidad de cortar y pegar el ADN de una manera programable. Estos sistemas combinan, de una manera nunca antes vista, la alta programabilidad de las moléculas de ARN junto con el músculo funcional de las proteínas. Gracias a abordajes genómicos, en los últimos años se han identificado diferentes arquitecturas CRISPR con propiedades singulares.

En definitiva, a medida que descubrimos y caracterizamos en detalle sistemas genéticos relacionados con los virus, desde aquellos presentes en bacterias

A medida que descubrimos y caracterizamos en detalle sistemas genéticos relacionados con los virus incrementamos nuestra capacidad para hacer frente a nuevas y preexistentes infecciones virales

Los sistemas CRISPR se han readaptado como sistemas de diagnóstico de enfermedades infecciosas

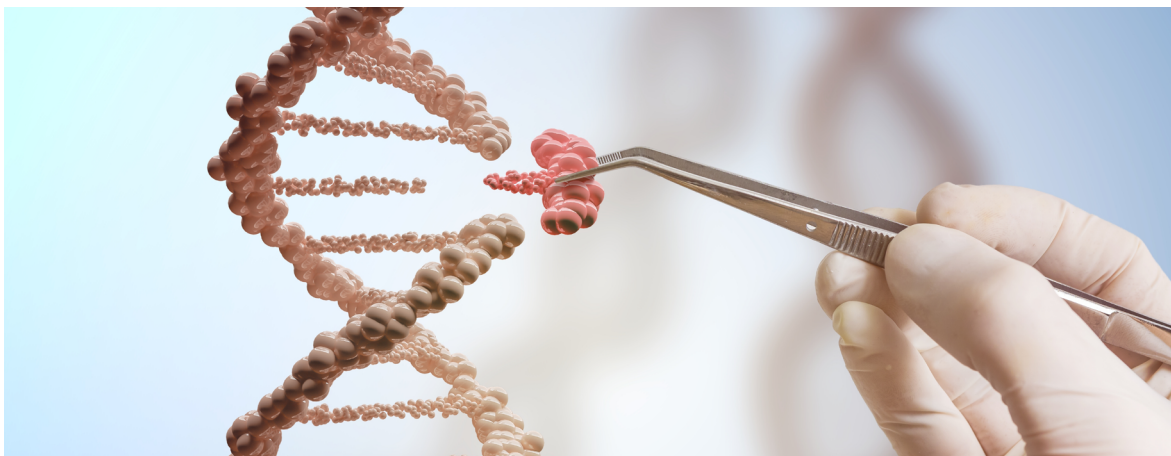
recónditas hasta aquellos implicados de forma directa en enfermedades humanas, incrementamos nuestra capacidad para hacer frente a nuevas y preexistentes infecciones virales, con especial interés para hacer frente a aquellas que crean crisis de salud pública.

Un escenario de autodiagnóstico para controlar mejor la pandemia

El diagnóstico clínico de infección por SARS-CoV-2 se basa principalmente en una prueba PCR (siglas en inglés para *reacción en cadena de la polimerasa*). Sin embargo, debido al gran volumen de casos (tanto infecciones que resultan asintomáticas como aquellas que conducen a la COVID-19), se hace necesario el uso de sistemas

de diagnóstico rápido e incluso de autodiagnóstico. La rápida identificación de personas infectadas por SARS-CoV-2 es crucial para la contención de la pandemia, puesto que así podría limitarse tanto la transmisión comunitaria como la gravedad de los casos, al adoptar medidas terapéuticas tempranas. Por ello, el desarrollo de nuevos sistemas de detección rápidos, baratos y de fácil uso es relevante. En este sentido, los test serológicos y de antígenos han aparecido como alternativa a las PCR. Sin embargo, estos sistemas no detectan directamente el genoma del virus y su sensibilidad no es como la de la PCR.

Los sistemas CRISPR, debido a que son ejemplos paradigmáticos donde concurren una serie de propiedades interesantes desde una perspectiva biotecnológica, han sido capaces de readaptarse como sistemas de diagnóstico de enfermedades infecciosas, yendo más allá de su función natural en el sistema inmune bacteriano y de la aplicación sintética de la edición genética. Estos desarrollos son muy recientes, por lo que todavía



existe margen de mejora, siendo así un campo caliente de investigación. Pero ¿cómo funcionan? El diagnóstico basado en CRISPR consiste en la utilización de un complejo de ARN y proteína preprogramado que es capaz de reconocer un material genético dado (en particular, el material genético de un virus). Este material genético puede ser tanto ADN como ARN. Cuando el complejo CRISPR reconoce su diana es capaz de emitir una señal (mediada por una actividad enzimática) que puede leerse en equipos especiales de fluorometría o en tiras reactivas de flujo lateral de uso general (por ejemplo, como las que se utilizan en

las pruebas de embarazo). Puesto que las concentraciones del genoma del virus (por ejemplo, ARN de SARS-CoV-2) en muestras clínicas son muy bajas (del orden de una copia por microlitro), es necesario llevar a cabo un proceso de amplificación previo. En principio, cualquier método es adecuado y, dependiendo de la secuencia de interés, un método particular podría funcionar mejor que otros. Para evitar depender de equipamiento especializado (por ejemplo, una máquina de PCR), que impide llevar a cabo una intervención rápida y masiva, se emplean sistemas de amplificación isotérmica, como por

La rápida identificación de personas infectadas por SARS-CoV-2 es crucial para la contención de la pandemia, puesto que al adoptar medidas terapéuticas tempranas podría limitarse tanto la transmisión comunitaria como la gravedad de los casos

ejemplo la amplificación por recombinasa polimerasa, que pueden realizarse en un simple tubo a temperatura ambiente y han demostrado ser tan eficientes como los sistemas tradicionales basados en PCR. No obstante, si se usan múltiples complejos CRISPR o si se aumenta la concentración local de las moléculas implicadas en la reacción, sería posible la detección sin necesidad de amplificación cuando la carga viral es alta.

Además, con estos sistemas es posible discriminar secuencias a nivel de nucleótido, algo que no es posible de otra manera si no se secuencian las muestras. Esto podría ser de gran utilidad epidemiológica si se prepararan kits de diagnóstico en tiempo real de pandemia para detectar una variante concreta del virus. Gracias a secuenciaciones masivas de muestras clínicas y a actividades

de rastreo, ahora sabemos que han aparecido diferentes variantes de SARS-CoV-2 que parecen tener tasas de transmisión más altas.

Habiendo sido conscientes en primera persona de la necesidad de detectar de forma temprana a las personas infectadas para minimizar la transmisión (especialmente los casos asintomáticos) y de no saturar el sistema público de salud, una visión extendida es que el diagnóstico, al menos en primera instancia, debería ser personal. Es decir, un autodiagnóstico en el domicilio, al igual que ocurre en el caso del embarazo. Ante un resultado positivo, se acudiría al centro de salud de turno para realizar un diagnóstico confirmatorio. Sabiendo que con los sistemas CRISPR no se requiere más que un tubo y una tira y que el tiempo estimado en obtener un resultado está

alrededor de una hora, podríamos pensar en llevar a cabo un autodiagnóstico de infección en el propio domicilio si partiéramos, por ejemplo, simplemente de muestras de saliva. Es interesante saber que la Agencia Americana de Medicamentos y Alimentos ha aprobado de emergencia el uso de esta tecnología para hacer frente al SARS-CoV-2, aunque de momento en condiciones de laboratorio. Un autodiagnóstico en el domicilio, unido a un sistema de rastreo eficiente por medio de aplicaciones móvil, podría constituir una barrera de contención eficaz del virus. Podemos entonces anticipar que una serie de test basados en tecnología CRISPR estarán disponibles para hacer frente a una futura pandemia, la cual esperemos podamos sortear de mejor forma.

Artículo núm. 11 | Enero 2021

COPYRIGHT © 2021 FUNDACIÓN GENERAL CSIC.
TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS.
Prohibida su reproducción total o parcial sin permiso de los autores

