

Antecedentes

A pesar de la capacidad regenerativa de la mayoría de los tejidos del cuerpo, existen algunas lesiones o enfermedades como el mal de Parkinson, la diabetes mellitus, las alteraciones cardíacas y las enfermedades osteodegenerativas y nerviosas, que provocan un daño irreversible en las células afectadas, haciendo que el correspondiente órgano o tejido pierda su funcionalidad^[1]. Las enfermedades osteodegenerativas como la osteoporosis, la artritis y las lesiones de los discos articulares generan grandes pérdidas de fragmentos óseos, y tienen un efecto devastador en el bienestar y la calidad de vida de los pacientes.

Los procedimientos clínicos disponibles, tienen un uso limitado debido a la movilidad del sitio donante, en el caso de los autoinjertos; o por el rechazo inmune o la baja capacidad regenerativa, en el caso de los aloinjertos o xenoinjertos^[2]. Todas estas limitaciones han llevado a la búsqueda de nuevas formas de restituir los procesos biológicos que han resultado afectados, bien mediante el aporte de precursores celulares sanos, en procesos conocidos como terapias celulares, o la aplicación de factores de crecimiento producidos normalmente por tales células^[3]. Investigadores del Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, encabezan una línea de investigación con modelos animales que permiten la manipulación experimental, cuyo objetivo es comprender los mecanismos moleculares de la morfogénesis de la mano y la formación de los dedos.

La morfogénesis (del griego morphê, forma, y génesis, creación) es uno de los tres aspectos fundamentales de la biología del desarrollo, junto con el control del crecimiento celular y de la diferenciación celular. La morfogénesis incluye la forma de los tejidos, de los órganos y de los organismos completos y las posiciones de varios tipos de células especializadas. El estudio de la morfogénesis, pretende comprender el proceso que controla la distribución organizada especialmente de las células, proceso que aparece a lo largo del desarrollo embrionario de un organismo y que da lugar a las formas características de los tejidos biológicos, de los órganos y de la anatomía corporal.

En este sentido, actualmente se estudian las malformaciones de las extremidades humanas como son: los dedos pegados (sindactilias); más de cinco dedos (polidactilias), y los enanismos (acndroplasia y acondrogénesis), entre otras. Entender, cómo se estructura los mecanismos que llevan a la configuración de los dedos y las moléculas involucradas en este proceso, será posible que en un futuro próximo se pueda regenerar un dedo humano o modificarse alguna patología en la mano del hombre. Lo que sería relevante, por ejemplo, en las enfermedades osteodegenerativas humanas.

¹ Mínguez A., Escamilla F. Terapia celular y otras estrategias neuroregenerativas en la enfermedad de Parkinson (I). *Revistaneurológica*, 41, 604-614, 2005.

² Estrada C., Paz A.C., López L.E. Ingeniería de tejido óseo: consideraciones básicas. *Revista EIA*, 5, 93-100, 2006.

³ Prósper F., Gaviria J.J., Herreros J., Rábago G., Luquin R., Moreno J., Robles J.E., Redondo P. Trasplante celular y terapia regenerativa con células. *Anales del sistema sanitario de Navarra*, 29, 219-234, 2006.

Sin embargo, el actual incremento de sofisticados instrumentos biológicos de diagnóstico, tratamiento y asistencia desarrollados en otros países, dejan a México rezagado en la búsqueda del desarrollo biológico.

Es por eso, que el objetivo del presente trabajo de Tesis es establecer una solución tecnológica propia y llevarla a los laboratorios de Investigación Biológica de la UNAM.

¿Qué hacer?

Varias son las propuestas (metodologías y desarrollos tecnológicos) para sanar la carencia de infraestructura en sistemas biológicos, entre las cuales, se pueden mencionar las siguientes:

- ✚ Desarrollar hardware para caracterización biológica basado en un μC (por sus siglas en inglés, Micro Controller) o algún otro dispositivo programable, y CI (Circuitos Integrados) comerciales de propósito general.
- ✚ Usar laboratorios remotos a través de Internet.
- ✚ Acceder a facilidades industriales o a la de otras instituciones de educación.

La última propuesta se puede realizar, eventualmente, sin un convenio establecido entre las partes, en el que la buena voluntad permite, acceder a facilidades de simulación, de pruebas y de caracterización del sistema. Sin embargo, el acceso a facilidades industriales es viable sólo cuando hay una colaboración o proyecto conjunto en marcha. Si es el caso, en cuanto el proyecto concluye, el acceso a dichas facilidades también.

Por otro lado, los laboratorios remotos, por otro lado, merecen una atención especial. Las arquitecturas cliente-servidor ofrecen instrumentos de propósitos generales. Éstos se controlan vía Internet y están conectados directamente a una PC o a través de una interfase vía un bus de control. Toda vez que las aplicaciones son definidas en línea (on-line) se inicia un periodo de espera, es decir, el sistema espera por la solicitud o conexión del cliente, para así poder poner en operación los instrumentos solicitados. En esta arquitectura, el servidor actúa como una clase de instrumentos que el cliente accede. Una variación de la arquitectura servidor-cliente es la denominada DCOM (por sus siglas en inglés Distributed Component Object Model) en la cual es posible acceder a componentes remotos y obtener resultados adicionales. El software comercialmente disponible para controlar remotamente sistemas de medición, solicita aplicaciones específicas para ser instaladas en el equipo de cómputo del cliente^[4]. El software no es de distribución libre, y su costo es elevado para la economía de las instituciones de educación pública nacional.

Finalmente, el desarrollo de hardware para sistemas biológicos parece ser la opción más adecuada, dos son los dispositivos programables generalmente utilizados: μC y FPGA (por sus siglas en inglés, Field Programmable Gate Array). Por las capacidades propias de un μC , su uso se orienta principalmente a aplicaciones de control/supervisión de procesos y monitorización de parámetros de interés. La ventaja de usar dispositivos programables contra la del uso de aplicaciones no digitales es que se cuenta con memoria (RAM y Flash) para almacenamiento, conexión serial a PC y posibilidades de incorporar otros dispositivos para aumentar las capacidades de la plataforma bajo desarrollo.

⁴ De Capitán S., Ferrero A. y Asaron M., Mobile Agent Technology for Remote Measurements, en IEEE Transaction on Instrumentation and Measurements, vol. 55, núm. 5, pp. 1559-1564, octubre 2006.

Solución propuesta.

De lo anterior es viable desarrollar una plataforma de caracterización basada en un μC , incorporar los CI comerciales para incrementar las capacidades del μC seleccionado.

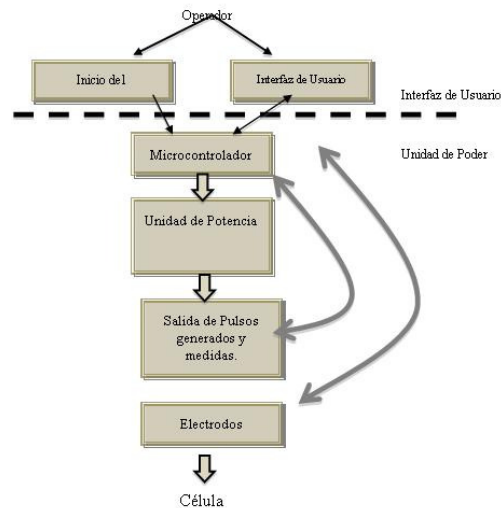


Figura A “Diagrama a bloques de la plataforma de caracterización.”

Considerando ventajas y/o desventajas de los dispositivos programables existentes en el mercado, la solución propuesta se muestra en la Figura A en la que el procesador es un dispositivo μC , Adecuación refiere CIs comerciales que acondicionan las señales que se envían y/o se reciben de esta etapa de adecuación. Esta característica es necesaria para aquellas situaciones en las que las variables de interés son de magnitud tan pequeña que, para conservar las capacidades del μC , se requiere aplicar una etapa de amplificación, por el lado contrario, se debe reducir la amplitud si ésta es de gran valor. Luego, para el bloque Despliegue, se propone un LCD (por sus siglas en inglés, Liquid Cristal Display) que permita al usuario dar seguimiento a la caracterización seleccionada, mientras que un teclado permite la interacción con el sistema, es decir, permite programar un evento y/o visualizar resultados, entre otras capacidades.

Pero ¿qué es lo que realmente hace el sistema y por que es necesaria la aplicación en un hardware para caracterización biológica?

El objetivo de este sistema de caracterización biológica es generar lo que se conoce como electroporación o electropermeabilización. La electroporación tiene sus inicios en los años ochenta del siglo pasado y consiste en la emisión de una onda electromagnética (con predominio del campo eléctrico) pulsada, atérmica y no ionizable con la finalidad de producir una alteración en el potencial de la membrana. Ésta alteración provoca una electrorotación de los lípidos con la consiguiente apertura momentánea de la membrana celular (poros) para el ingreso de sustancias hacia su interior. Este mecanismo tiene la particularidad de ser reversible y transitorio debido a la característica de la corriente; pulsada y no constante.

Cuando el voltaje que atraviesa una membrana plasmática excede su rigidez dieléctrica se forman poros. Si la fuerza del campo eléctrico aplicado y/o la duración de la exposición al mismo se eligen apropiadamente, los poros formados por el pulso eléctrico se sellan tras un corto periodo de tiempo, durante el cual los compuestos extracelulares tienen la oportunidad de entrar a la célula. Sin embargo, una exposición excesiva de células vivas, a campos eléctricos puede causar apoptosis y/o necrosis, procesos que provocan la muerte celular.

La electroporación es usada habitualmente en biología molecular para la transformación de bacterias, levaduras y protoplastos vegetales. También corrige genes defectuosos responsables del desarrollo de enfermedades, las proteínas que codifican los genes son capaces de realizar nuevamente las funciones dañadas por los desórdenes (trastornos genéticos).

Las membranas lipídicas, las bacterias también tienen una pared celular compuestas de peptidoglicano y sus derivados. Sin embargo, las paredes son porosas por naturaleza y sólo actúan como corazas que protegen a la célula de impactos ambientales severos.

La electroporación se lleva a cabo en un electroporador, sistema de caracterización biológica que crea la corriente eléctrica y la hace pasar a través de la suspensión celular (típicamente bacterias, aunque otros tipos de células pueden ser usadas, como se ha comentado anteriormente). La suspensión se micro-inyecta en una cubeta de plástico o vidrio con electrodos de aluminio en los costados.

El éxito de la electroporación depende en gran medida de la pureza de la solución con el plásmido, especialmente de su contenido en sal. Las soluciones impuras pueden causar una pequeña explosión (un arco eléctrico), en cuyo caso las células morirían. Si esto ocurre a menudo, una precipitación de las células podría ser necesaria antes de una nueva electroporación.

Las ventajas de utilizar esta tecnología son inmediatas para el biólogo, pues dispone de un mejor manejo de inserción de datos, así como un mejor despliegue de los mismos.