

# LA VIDA «*IN VITRO*»

Excmo. Sr. Director.: Sres. Académicos; Sras.; Sres.:

Los recientes progresos en el conocimiento de los mecanismos bioquímicos de la célula han sido posibles a partir del momento en que los investigadores extrajeron de la misma un sistema enzimático, lo purificaron y lo transportaron a un tubo de ensayo.

Una serie de experimentos, efectuados por el Profesor Arthur Kornberg y sus colaboradores en la Escuela de Medicina de la Universidad de Standford, en California, llevaron a decir, no ha mucho, al Presidente L. B. Johnson de los Estados Unidos –con ocasión de un discurso en la *Smithsonian Institution*-, que se trataba de una realización trascendental, que abría una amplia cancela para nuevos descubrimientos en la lucha contra la enfermedad y en la consecución de una vida más sana para la especie humana. Por otra parte el Dr. J. A. Shannon, Director del *Nacional Institute of Health* de Norteamérica, ha considerado que estos descubrimientos suponen una hazaña científica inobjetable, que perdurará como uno de los grandes acontecimientos en la ciencia de la vida.

## Introducción

Victo Hugo (W. Shakespeare, II, 6. 1): Le chef d'oeuvre est una variete de miracle.

Para los bioquímicos, la vida arranca de dos categorías de sustancias complejas: los ácidos nucleicos –ácido desoxirribonucleico o DNA, y ácido ribonucleico o RNA- y las proteínas integradas por una veintena de aminoácidos. Desde los virus hasta el hombre, todos los organismos vivos contienen estos componentes.

La materia viva está organizada de una manera extraordinariamente semejante en todos los seres: las actividades catalíticas son dirigidas por sustancias proteínicas de naturaleza enzimática: los procesos de reproducción y de dotación genética de cada individuo están vinculados a los ácidos nucleicos; son análogos los fenómenos mediante los cuales se consigue o se transfiere la energía para el mantenimiento del ritmo vital. La clara identidad de los sistemas ha permitido decir que lo que es cierto bioquímicamente para un animal o u vegetal superior, lo es también, poco más o menos, para un microorganismo. Pero se dan excepciones que confirman la regla; así Stanley logró cristalizar determinados virus y en estas formas límite se incluye al mismo tiempo, una característica tan propia del mundo inanimado como la cristalización, junto con propiedades infecciosas y la capacidad de multiplicación, típicas de seres vivos.

Durante años se ha mantenido la discusión acerca de si los virus deben ser considerados como seres vivientes; que parece resuelta si se les considera como formas anómalas de actividad vital, probablemente organismos de tipo degenerativo. Por adaptación extrema a una vida parasitaria carecen de todo género de componentes estructurales e incluso de equipo metabólico pero retienen su adaptación genética;

están, pues, en condiciones para una reproducción rápida en cuanto penetren en células apropiadas, cuyos sistemas enzimáticos utilizarán en propio beneficio. Algunos virus poseen DNA y otros RNA. Cuando un virus infecta el material viral puede subvertir el mecanismo genético celular y hacer que produzca más virus en lugar de sus propios materiales normales. Al morir la célula, emerge la nueva generación de virus.

La misión respectiva de los ácidos nucleicos en la génesis de la vida está perfectamente esclarecida. El DNA es guardián del patrimonio hereditario, arquetipo autor de los planos con arreglo a los cuales se forma el organismo; es la sustancia química de la que están hechos los genocitos de todos los seres vivos que yacen en las estructuras filiformes de las células, en los cromosomas, y proporcionan los bosquejos químicos que determinan la forma y la función de toda cosa viviente. El RNA desempeña la misión de artesano y colabora directamente en la construcción cumpliendo las órdenes recibidas del D.NA. En cuanto a los aminoácidos representan sillares fundamentales, a partir de los cuales el RNA origina tal o cual proteido, de carácter enzimático, estructural, etc.

De lo anterior se deduce que no hay razón fundamental para mantener una barrera tajante entre la materia viva y la inanimada; precisamente porque los bioquímicos han estudiado la primera, con los métodos reservados de antiguo a la segunda, han podido penetrar así en los mecanismos más secretos de la vida. Esto último puede ser aceptado con arreglo a la sencilla definición del ser vivo como conjunto químico heterogéneo con individualidad operante y capacidad reproductora. Estas condiciones se dan incluso en los virus, y el Profesor Kornberg ha logrado reproducir, a partir de unidades químicas, una réplica exacta y funcional del ácido desoxirribonucleico de carácter viral. En lo que a éste tema candente se refiere, también es digno de tenerse en cuenta la síntesis de un ácido ribonucleico infeccioso que fue conseguida por los Profesores Spiegelman y Haruna, algún tiempo antes de los descubrimientos aludidos.

Consideramos tan importantes estos trabajos bioquímicos, que opinamos no está de más su reseña y comentario en esta ocasión solemne de apertura de un nuevo curso académico.

## ANTECEDENTES

C.C. Colton (Lacon:  
Reflections):

To go back to Antiquity is one thing ;  
To go back to it is another.

Cuidadas investigaciones establecieron, ya hace algún tiempo, que el ácido desoxirribonucleico o DNA era constituyente de núcleos celulares, mientras que el ácido ribonucleico o RNA se localizaba, sobre todo, en los ribosomas citoplasmáticos. El primero tiene funciones ligadas principalmente a la conservación de los caracteres genéticos hereditarios, y el segundo participa especialmente en los progresos de síntesis proteica; ambos pueden tener carácter viral. En los virus vegetales, el RNA es el único ácido nucleico existente y, por tanto, actúa de portador de caracteres específicos.

El *Royal Karolinska Institut* de Medicina y Fisiología de Estocolmo, que es el encargado de la selección anual del Premio Nobel de Fisiología y Medicina, lo otorgó en el año 1959 al Prof. Severo Ochoa, Jefe del Departamento de Bioquímica de la *New York University*, y al Prof. Dr. Arthur Kornberg, Jefe ejecutivo del De-

partamento de Bioquímica de la *Stanford University* de California. A estos hombres de ciencia, así galardonados, se les definió en la cita del Premio Nobel como dos de los mejores bioquímicos de su tiempo.

Estos distinguidos químicos-biólogos habían trabajado en la síntesis artificial de los ácidos nucleicos por medio de enzimas. El gran interés científico acerca de los ácidos nucleicos celulares se acentuaba así de nuevo oficialmente; sólo dos años después de la concesión de la misma distinción al Profesor Sir Alexander Todd por sus trabajos sobre la síntesis química de las unidades fundamentales para la construcción de tales macromoléculas. Es obvia la importancia del conocimiento del mecanismo de la síntesis de los ácidos nucleicos, que contienen en sí mismos la llave para los procesos vitales de la célula.

Los dos investigadores citados trabajaron primero juntos hasta 1946, cuando Kornberg era un estudiante postgraduado -con permiso oficial del Servicio de Salud Pública de Estados Unidos- que colaboraba con el Prof. Ochoa en su laboratorio. Sin embargo, los estudios posteriores sobre el RNA y DNA fueron llevados a cabo por los dos, independientemente.

Ochoa, en sus ensayos sobre el mecanismo de oxidación de ciertos ácidos grasos, con enzimas que existen en los tejidos animales, encontró nuevas reacciones de interés químico y biológico. Trataba de buscar la forma de utilización de la energía liberada por las oxidaciones intraorgánicas, y llegó a dar con la posibilidad biológica de la síntesis de ácidos nucleicos. En efecto, Ochoa y sus colaboradores, especialmente Grunberg-Manago, dieron cuenta en 1955 de que en el *Azotobacter Vinelandii* existía una enzima, que catalizaba la síntesis de polinucleótidos a partir de 5 nucleosido-difosfato con liberación de ortofosfato. Posteriormente aportaron, con pruebas experimentales, que la enzima -que denominaron polinucleótido fosforilasa- forma polinucleótidos; es decir, ácidos nucleicos semejantes a los ácidos ribonucleicos o RNA. La purificación de la polinucleótido fosforilasa proporcionó, ulteriormente, una enzima razonablemente pura y activa, que polimerizaba componentes nucleótidos sencillos, tales como: ácido adenílico (A), ácido guanílico (G), ácido uridílico (U) y ácido citidílico (C); se originaban así hebras de RNA: poli-A, poli-G y poli-C, etc.

La enzima precisaba magnesio y según fuese el sustrato presente podía formar homopolímeros o heteropolímeros. Los enlaces internucleotídicos que se formaban eran en 3'-5' como en el RNA natural. La reacción se verifica con rapidez en presencia de un cebador apropiado (*primer*), que podía ser un oligonucleótido relativamente sencillo, en forma que recuerda lo que sucede en la acción sintética de la fosforilasa respecto del glucógeno. Sin embargo, también se obtienen polinucleótidos por incubación prolongada en ausencia de cebador. Tan importantes hallazgos referentes a los ácidos ribonucleicos los dio a conocer Ochoa en la revista *Science*, publicación oficial de la Asociación Americana para el Progreso de las Ciencias, y en una serie de informes en el *Journal of Biological Chemistry*, publicación periódica que edita la Sociedad Americana de Química Biológica.

Una segunda enzima, aislada posteriormente de hígado de rata por Neiss, la RNA polimerasa (nucleósido trifosfato: polinucleótido nucleotidil-transferasa) estaba dotada de una más evidente función sintética. En este caso concreto se utilizaron trifosfatos de los cuatro nucleósidos, en presencia tanto de RNA (cebador), como de DNA. Este sistema enzimático es de indudable importancia, ya que el núcleo celular es el principal lugar donde se verifica la síntesis de RNA; por otra parte, la intervención del DNA está en concordancia con las teorías actuales sobre la transmisión de información genética. Son muchas las pruebas que demuestran la función del DNA como molde para la síntesis del RNA y la exacta transcripción de la secuencia de bases del DNA en el RNA complementario; por ello, a la enzima se la ha calificado de transcriptasa. Existe aún otra clase de enzimas en microorganismos, fundamentalmente en células infectadas por virus,

que sólo precisan de la presencia del RNA para la síntesis; se designan como replicasas, siendo genuinas RNA polimerasas, a diferencia de la polinucleótido fosforilasa. Con estas enzimas se ha conseguido ulteriormente la replicación *in vitro* de virus infecciosos con una sola hélice de RNA, hecho al que después aludiremos.

En 1956 encontró Kornberg su enzima sintetizante del DNA en la variedad común intestinal de la bacteria *Escherichia coli*. Para la producción del ácido nucleico debían estar presentes sales de magnesio, con lo que la reacción comienza. Kornberg y sus colaboradores- particularmente I. H. Lehman, M.J. Bessman y J. Alder- empezaron su síntesis con monofosfatos de desoxinucleótidos que aparecen naturalmente; éstos pueden obtenerse por degradación del DNA y su síntesis química se había desarrollado hacía poco. Los ensayos de Kornberg y sus colaboradores corresponden a la preparación total del DNA y convierten los monofosfatos en trifosfatos, bien sea química o enzimáticamente. El paso decisivo en la síntesis tiene lugar en solución amortiguadora de fosfatos y una pequeña cantidad de DNA natural cebador, que actúa como *template* en el sistema amortiguador, con adición de la DNA-polimerasa (desoxinucleótido-trifosfato. DNA desoxinucleotidil transferasa) extraída del *Escheria coli*. La reacción es de tipo duplicasa, y Khorana y Kornberg han indicado que la DNA-polimerasa puede utilizarse también para formar largas cadenas de DNA a partir de otras más cortas. La síntesis se verifica de manera que los cuatro desoxirribonucleósidos-5' - trifosfato se reúnen en una cadena mediante la acción catalítica enzimática. El DNA natural cebador presente dirige el proceso de polimerización, de forma que los nucleósidos están en el mismo orden en las nuevas moléculas que en el *template*. El DNA sintético producido de esta forma es semejante al natural, con idénticas características de viscosidad, peso molecular, coeficiente de sedimentación, etc., pese a que pueden originarse cantidades más de veinte veces superiores a las introducidas al iniciar la reacción. El cebador parece actuar como modelo y dirige la síntesis en réplica de tipo semiconservador, es decir, dividiéndose cada doble helicoide, de modo que en las moléculas resultantes una de las cadenas es primitiva y la otra se sintetiza en forma complementaria. En preparación más bien limitada, se ha señalado la incorporación de desoxinucleótido-trifosfatos en medios en los que no se encontraban los cuatro requeridos; asimismo se puede originar un polímero artificial por incubación con la enzima, sin cebador alguno, de trifosfato de desoxiadenosina y trifosfato de timidita. Es posible que la transferasa catalice dos reacciones básicas distintas: una originaría el alargamiento de cadenas de oligonucleótidos o la yuxtaposición de nucleótidos alternativamente; otra más biológica catalizaría la reduplicación del cebador.

Las moléculas de DNA, que se logran en la forma indicada, carecen de efectividad biológica y para alcanzarla es necesaria la colaboración de otra enzima, la polinucleótido cicloligasa. Esta une el grupo fosfato terminal de un extremo con el oxhidrilo final del otro y lleva así, como veremos después, a una disposición anular activa.

Los experimentos en el fascinante campo de la biosíntesis proteica, se han visto siempre obstaculizados, por la dificultad de aislar de la célula los ácidos nucleicos no degradados. Los estudios anteriormente expuestos han hecho asequible, hoy día, la obtención de polímeros semejantes –en condiciones controladas y reproducibles- y han contribuido decisivamente al progreso del conocimiento científico.

# LOS HECHOS

J.P. Richter (Titan,  
Zykel 154)

Nur Taten gaben dem Leben Särke.

Los doctores S. Spiegelman, professor de Microbiología de la Universidad de Illinois (U.S.A), e I. Haruma del Instituto de Investigación de Virus de la Universidad de Kyoto, Japón, juntamente con sus colaboradores, realizaron por primera vez en 1965 síntesis de un ácido ribonucleico infeccioso, capaz de duplicarse auto reproduciéndose. La síntesis la practicaron estos investigadores mezclando cantidades exactas de la enzima duplicadora, cuatro trifosfato-nucleósidos y RNA constitutivo de genes virásicos, terminando la reacción por enfriamiento en hielo, filtrando y lavando el precipitado. La escasa cantidad de moléculas de RNA, que se originaron en el primer tubo de ensayo, fueron ulteriormente transferidas a un segundo tubo, y éste sucesivamente a otros, hasta un total de quince. Los ensayos complementarios realizados, demostraron categóricamente que los tubos contenían moléculas del RNA virásico, con capacidad infecciosa, reproducidas en la mezcla sintética.

Los estudios de Torelli y sus colaboradores, han demostrado también la posibilidad de síntesis *in Vitro*, de RNA de alto peso molecular, por la intervención de pequeños linfocitos circulantes humanos. Las fitohemoaglutininas (PHA) incrementan, a estos efectos, temprana y relativamente, la síntesis de RNA ribosomal.

A finales de 1967, destacados hombres de ciencia han hecho referencia a los trabajos de un investigador alemán, Cristoph Scholtissek, del Laboratorio de Virología del Instituto Veterinario de Huyesen. El precipitado biólogo, según parece, ha descubierto e identificado ulteriormente una RNA-polimerasa, indispensable para el desarrollo viral, y cuya privación modifica notablemente los caracteres específicos de los virus infecciosos. Ciertamente no impide sus posibilidades de penetración en las células, pero les quita la capacidad destructiva sobre aquéllas. La ausencia, artificialmente determinada, de dicha enzima, podrá verosímilmente constituir en el futuro un recurso terapéutico original, frente a múltiples infecciones virásicas.

A propósito del DNA, ya hemos aludido anteriormente a que la primera molécula de síntesis, lograda por Kornberg y sus colaboradores, fue decepcionante, ya que se mostró biológicamente inactiva cuando se introdujo en el cuerpo celular de *Escherichia coli*. Sin embargo, Kornberg había previsto la probabilidad de este fracaso y subrayó, desde su primera comunicación sobre el tema, que, a pesar de todos los esfuerzos por purificar la preparación de la polimerasa. no era posible todavía desembarazarla por completo de indicios de nucleotidasa. Esta nucleotidasa es capaz de escindir la cadena de DNA, y se sabía que la menor alteración de ésta, podría hacerla inactiva. Por ello, con sus colaboradores, consagró largos y pacientes esfuerzos a la purificación de la polimerasa.

Los experimentos decisivos los verificaron con un virus «pigmeo», el Phi-X174, que posee una cadena sencilla de DNA, con una longitud de 6.000 bases, y cerrada sobre ella misma en forma de

anillo. En el DNA del Phi-X174, la proporción de las bases púricas y pirimídicas relativas, es: adenina (A) = 1; timina (T)= 1,33; guanina (G) = 0,98; citosina (C)= 0,75. Al DNA viral, con esta composición de nucleótidos, se le denomina forma *plus* (+); durante la réplica, un segundo anillo complementario crece alrededor de la molécula original. En este nuevo anillo *minus*(-), las proporciones de las bases están invertidas: A = 1,33, T = 1,00; G= 0,98. El anillo *minus*, a su vez, actúa como *template* o molde para la síntesis de nuevo anillo *plus* y solamente estos últimos se incorporan a nuevas moléculas de virus.

Kornberg -ayudado especialmente por un especialista de dicho bacteriófago Phi-X174-, utilizó por una parte DNA viral marcado con tritio y, por otra unidades constitutivas principales del polinucleótido: adenina, guanina, citosina; pero substituyó la timina por su análogo químico el bromouracilo, sobrecargado por la presencia de bromo. La adición de polimerasa purificada verifica la síntesis de una cadena de DNA *pesado* a lo largo del modelo viral tritiado, Esta cadena pesada se cierra sobre ella misma en forma de anillo, mediante una *joining enzyme* o enzima de unión. El DNA *pesado* se separa después de su modelo, por la asociación al medio de una pequeña cantidad de nucleotidasa; las suficiente para producir una ruptura, sobre una de las cadenas, de la mitad aproximadamente de los dobles anillos. La mezcla de cadenas intactas y de cadenas rotas, que resulta de esta operación, se desnaturaliza entonces por el calor, de modo que se separen las segundas. Por último, se aísla el DNA *pesado* por centrifugación, y el aporte adecuado de la enzima de unión realiza el cierre de la cadena, obteniéndose así finalmente anillos sintéticos de DNA.

Este DNA de síntesis, cuya estructura era complementaria del modo natural, se reveló biológicamente activo. Para excluir la posibilidad de contaminación con DNA natural, Kornberg tuvo la idea de emplear el propio producto de síntesis como modelo para una segunda síntesis. Con el nuevo DNA así conseguido era complementario del sintético, tenía por consiguiente, la misma estructura que el DNA que había servido de modelo inicial. En realidad, el DNA obtenido durante la primera síntesis era un molde negativo, formado sobre el DNA natural y servía para «imprimir» un segundo DNA de síntesis, réplica exacta del modelo natural. Este segundo DNA era a su vez infeccioso cuando se introducía en colibacilos; allí se replicaba y daba lugar a una generación de virus completos, absolutamente imposibles de distinguir del virus natural.

Arthur Kornberg y su colaborador Mehran Goulian en la Universidad de Chicago, habían logrado, por tanto, una copia exacta de la molécula de DNA, que se encuentra en el bacteriófago PhiX- 174 que infecta y destruye el *Escherichia coli*. El Dr. L. Sinsheimer de la *Caltech's Biology Division*, que descubrió este bacteriófago hace unos diez años, confirmó la infecciosidad del DNA sintético, midiendo su capacidad para entrar en el *Escherichia coli* y producir nuevas y abundantes partículas de virus. Cuando el DNA sintético entra en una célula de *Escherichia coli*, se comporta del mismo modo que el que se presenta naturalmente; sufre el ciclo de réplica normal y asume una sobrecubierta de proteínas para convertirse en una partícula de virus idéntica al original. Es una prueba convincente de que la réplica enzimática de los cinco o seis genes, que constituyen el DNA del Phi-X174, está libre de error.

En resumen, cuando el DNA producido artificialmente fue puesto dentro de células vivientes, las infectó en la misma forma que lo hubiera hecho un virus normal. Las células infectadas interrumpían su propio funcionamiento habitual para producir, en su lugar, virus; luego se rompían, morían y hacía su aparición un huésped de nuevos virus. Estos virus eran indistinguibles de los naturales, pero su origen era el DNA, producido artificialmente en el laboratorio. A este respecto deben considerarse, pues, como virus fabricados por el hombre.

El profesor Kornberg ha señalado que los genes habrían sido

defectuosos si hubiera tenido lugar una equivocación en la situación de las unidades de nucleótidos, relacionadas una con otra, durante el crecimiento. La síntesis ha probado también que sólo los cuatro bloques reconocidos que forman nucleótidos sirven para formar el DNA viral. Por tanto, hay que desechar la presencia de pequeñas cantidades de otros materiales impurificadores,

El hecho que Goulian y Kornberg optaran por copiar el DNA del Phi-X174 fue porque era relativamente pequeño comparado con el de otros orígenes. En efecto, su peso molecular es de aproximadamente dos millones, cifra más bien baja para un cromosoma. Además, el Phi-X174 es uno de los pocos casos conocidos en que el cromosoma es un DNA de un solo cabo, ya que, generalmente, están formados por un par dispuestos en forma helicoidal.

Indudablemente, los factores clave que contribuyeron al éxito de la *Stanford University* fueron las dos enzimas procedentes del *Escherichia coli*: una, la DNA polimerasa pura, libre de otras enzimas que pueden degradar el ácido desoxirribonucleico; otra, la enzima que une polinucleótidos, que se identificó independientemente en el mismo año por diferentes laboratorios. La DNA polimerasa favorece la formación de ácido nucleico a partir de unidades individuales que forman nucleótidos, la enzima de unión mantiene la interacción entre el grupo fosfato de una molécula de DNA recientemente sintetizada con el grupo hidroxilo de sus otros extremos, y permite de este modo formar un anillo; es éste un paso crítico porque, como hemos apuntado ya, el DNA carecería de actividad biológica si la molécula fuese lineal en vez de circular.

## CONSECUENCIAS CIENTÍFICAS

L.A. Séneca (Epistulae  
al Lucilium CXX. Sec 4):

Natura... semina nobis  
Scientiae dedit, scientiam non ded't.

Los primeros descubrimientos de Ochoa y Kornberg al ser traducidos a la Prensa diaria, llegaron a hacer suponer a ciertas gentes ignoras -e incluso a otras más doctas-, que se había creado vida en un tubo de ensaño. Conviene señalar al respecto que Ochoa manifestó entonces, públicamente, que la consecución en el laboratorio de la síntesis biológica de ácidos nucleicos no revolucionaba ningún dogma. No había realmente creación de vida, puesto que para ello se empleaban enzimas que se obtenían de células vivas, que había que matar o destruir para conseguir aislar dichos factores catalíticos.

Hay que subrayar que, por el contrario, las últimas investigaciones sobre síntesis del DNA activo se ha efectuado bajo el control de enzimas procedentes de la célula viva. Kornberg, después de unos diez años de investigaciones, ha puesto a punto un medio lo más parecido posible al vital intracelular, en cuyo seno se efectúa la producción de ácidos nucleicos. He ahí lo que, objetivamente, creemos que constituye el principal valor de sus meritorios ensayos; algo análogo diríamos respecto a la síntesis del RNA activo, lograda por Spiegelman y Haruna.

Es innecesario recalcar que estas investigaciones son de gran significación para múltiples enfermedades y problemas biológicos que acosan a la Humanidad; pero pueden ser aún más importantes en sus potencialidades para revelar procesos íntimos de la vida misma. Entre las aplicaciones de estos asombrosos descubrimientos figurarían las que señalamos a continuación.

Según Kornberg, los resultados conseguidos hasta el momento dan una visión más clara de cómo se duplican los virus cuando entran en

las células, y cómo la DNA polimerasa o enzimas similares contribuyen a elaborar un nuevo ácido desoxirribonucleico; en consecuencia, debe ser posible, en el futuro, la copia de moléculas nucleotídicas más grandes y complejas. También se ha facilitado un procedimiento para alterar los DNA, modificando su estructura por introducción de unidades moleculares químicamente alteradas, y descubrir así los efectos sobre la efectividad biológica de los cambios de composición, es decir, de nuevas formas de virus.

La fabricación de DNA biológicamente activo, gracias a un medio compuesto de extractos celulares -con todas las posibilidades de intervención que esto lleva consigo-ofrece a la Biología molecular un campo de experimentación de extraordinario interés. Desde ahora es posible, al sustituir ciertos nucleótidos por análogos, determinar la función de cada gen en un virus y en las células de un mamífero.

Conviene considerar también la posibilidad de modificar genes de una forma específica en el animal y en el hombre, lo que conduciría al conocimiento de nuevas propiedades para ciertas células. Cabe imaginar la producción de virus artificiales con vistas a atacar a otros naturales, como los de ciertas formas de cáncer; así sería posible sintetizar enzimáticamente el DNA del virus del poliovirus, que produce una determinada variedad de tumores en diversos animales. Parece razonable admitir que, con tal sistema, se llegue a disponer de un buen camino para esclarecer cuáles son los genes del virus que producen respuesta cancerosa y cómo lo hacen en términos moleculares. Es seguro, asimismo, que todas estas delicadas técnicas aportarán algo para la corrección de ciertos trastornos hereditarios, tales como la fenilcetonuria, la hemofilia, la distrofia muscular, la diabetes pancreática, y otras enfermedades debidas probablemente a un solo gen defectuoso; una vez que se haya identificado éste y difundido en el tubo de ensayo, se le podrían empalmar a un DNA viral inofensivo, que serviría como vehículo para transportar dicho gen a las células defectuosas de un paciente.

En concreto, consideramos que entre las consecuencias científicas más relevantes de estos trabajos, relacionados con la posible creación de vida *in Vitro* estarían las siguientes:

- a) Alterar el material genético nocivo de los virus, evitado así que desarrollen su acción perniciosa.
- b) Variar igualmente, a voluntad, la estructura química de los genes en el hombre, determinando de esta manera modificaciones permanentes en el mismo.
- c) Aprender a crear genes artificiales, para combatir las afecciones denominadas proteinopatías en general, y enzimopatías en particular.

El camino abierto por el profesor Kornberg y sus colaboradores permite abrigar la esperanza de la síntesis de DNA, de bacterias, de organismos multicelulares y, en último extremo, de mamíferos y de virus asociados con enfermedades diversas.

## REPERCUSIONES METAFÍSICAS

Dante Alighieri(Divina  
Comedia: Paraíso I. v,1-3):  
La gloria di Colui che tutto  
muve per l'Universo  
penetra e risplendi.

Gran número de investigadores piensan, hoy día, que la vida comienza a partir del momento en que surge un conjunto tripartito muy estabilizado y coordinado entre sí, antecesor de los componentes

subcelulares (Rof). Este sistema lo formarían en primer lugar los ácidos nucleicos, es decir, los ácidos ribonucleicos y desoxirribonucleicos, que intervienen en la síntesis de proteínas. En segundo lugar, un mecanismo fotosintético o de síntesis química, produciría la energía necesaria, proveyéndola desde el medio exterior. En tercer lugar, una serie *de* enzimas catalizarían los dos procesos anteriores.

No consideramos que esté fuera de lugar el que contemplemos ahora a los ácidos nucleicos en relación con la evolución natural y con la vida creada artificialmente.

*Evolución y ácidos nucleicos.*- Las moléculas están formadas por nubes de electrones y éstos a su vez, por integrantes en número ingente que apenas conocemos bien. Para que tanta infinita complejidad pueda organizarse de manera perfecta, la evolución deberá darse desde los primeros momentos de la vida y a lo largo de de la escala de los seres vivos con interna y secreta armonía.

Ha definido Monod dos grandes propiedades paradójicas que poseen los seres vivos: la emergencia, que es la propiedad de reproducir y de multiplicar estructuras ordenadas y de permitir la creación evolutiva con complejidad creciente; la teleonomía –variante de finalidad-, según la cual todo ocurre como si los seres vivos estuvieran estructurados y condicionados para la supervivencia de la especie. Hoy día el soporte físico de la emergencia se ha identificado: es el DNA que constituye cromosomas, celador de la herencia y fuente de la evolución.

El RNA es una copia suscitada por el DNA. El RNA contiene las órdenes inscritas en el programa del DNA y va a agregarse a los ribosomas difundidos en la célula. Máquinas de fabricar las proteínas, los ribosomas ejecutan fielmente el programa dictado por el DNA. El intermediario entre el gen y el centro formador de proteínas, es el RNA mensajero: Por otra parte, Monod y Jacob han establecido la existencia de dos genes particulares: uno determina una proteína específica; otro tiene por función sintetizar una sustancia especial, llamada represor. Nos encontramos así en presencia de un verdadero dispositivo cibernético con circuitos completamente montados en la célula -a la espera de que una señal se produzca-, que son esencialmente represivos, y un *feedback* regula todo. Un mecanismo semejante debe intervenir también en la multiplicación celular, lo que englobaría el problema de los virus y el del proceso de la malignidad.

Las ventajas de la combinación pluricelular y de la progresiva especialización funcional y orgánica de las células para una mejor supervivencia, no hace falta resaltarlas. Las mutaciones van determinando la aparición de diversos organismos o formas psicósomáticas específicamente nuevas, que se van independizando en ciertas maneras del medio, y que son capaces de cierto control específico sobre él (Zubiri).

Ante la pregunta: ¿ Qué es el hombre?, una respuesta bioquímica, consecuencia de lo anterior -y que puede parecer un tanto extravagante no obstante su sutileza-, sería: el hombre es todo aquello que estructuralmente determinó, condicionó y exigió un ácido desoxirribonucleico. Aunque la respuesta es casi perfecta, metafísicamente hay que admitir que no soluciona el problema, aunque tiene la ventaja de situarlo en una perspectiva más correcta. A partir de este momento, la evolución deja de ser *evolución molecular* para convertirse en *evolución genética*. El gen DNA es una combinación funcional y, por tanto, materia vitalizada. La vida es información, y la información es entropía negativa, orden. La vida en sus primeros balbucesos es, única y exclusivamente, perpetuación del valioso material genético.

El reino vegetal es una vía muerta, comparado con el reino animal, que es la rama progresiva y ascendente del árbol de la Vida, Si dando un salto enorme, pasamos de los cardados a los mamíferos y dentro de éstos a los primates antropomorfos, vemos que la rama se escinde nuevamente en dos: póngidos –antepasados de los grandes simios- y

los homínidos. A partir de cierto momento, el cerebro del homínido, por evolución genética estrictamente natural está preparado para ejercer actividad intelectual: es el despertar de la inteligencia. Pero este ser vivo sería psíquicamente inestable y su existir no tendría sentido, si en el instante crítico una intervención sobrenatural no diese al homínido transformado su razón de ser, un alma racional: a la «existencia» se añadiría la «esencia». La estructura del DNA de este nuevo homínido sería causa exigitiva del alma racional. Sería ya, verdaderamente, el ácido desoxirribonucleico del primer hombre y todos sus hijos.

Dentro del campo biológico, lo más prudente es aceptar la limitación de nuestro conocimiento del proceso evolutivo y tratar de acarlo con nuevos datos objetivos. Es de esperar que en el futuro se armonicen sobre base científica, las tres grandes tesis que subrayan las teorías evolutivas: selección de mutaciones; influencia del medio ambiente; existencia de una variación progresiva condicionada por la estructura del organismo.

Ahora bien, la evolución es un proceso eminentemente finalista mediante el cual se originan tipos biológicos cada vez más perfectos, que han llevado, por una parte, a la formación del hombre y, por otra, a su ambientación mediante el concurso de otros seres vivos, a expensas de los cuales vive y prospera. La evolución orgánica debe ser el medio previsto por el Sumo Hacedor para actualizar la Creación en el transcurso del tiempo, poniendo el broche final, al darnos un alma inmortal (Pío XII). De acuerdo con el principio teológico de economía divina, la Causalidad Trascendente debe intervenir en el proceso evolutivo de la manera más discreta posible; sólo figurará allí donde aparece por vez primera -y en forma originaria- algo esencialmente nuevo e indeducible de ninguna otra cosa.

Surge, en su acción incesante y misteriosa, una cualidad que Bouyssonie ha calificado de «discreción de Dios», que quiere en su obra creadora hacer todo sin choque, «con orden y medida», y sin recurrir continuamente a este proceso extraordinario que llamamos milagro. La casualidad trascendental no es, sin embargo, menos manifiesta: la utilización progresiva de la materia permite pasar a una existencia superior; este advenimiento a la vida significa el origen de una maravillosa aventura.

*Vida artificial.*- Se preguntaba no ha mucho el Profesor Vilas en esta misma Real Academia, si llegaría el hombre a dar vida, artificialmente a estructuras sencillas y se respondía:..."no lo sé; hoy estamos muy lejos de esto, aunque son muchos los que se afanan por conseguirlo. Sigo creyendo en la necesidad de un acto expreso creacional para el origen de la vida. Y si lograsen dar vida a una célula primaria, y yo lo viera, cosa difícil, porque se han de dar mucha prisa, alabaría aún más la sabiduría de Dios, que en el hidrógeno primitivo ya puso la capacidad de aparición en un momento determinado de esa energía principal llamada vida, cuya captación y manejo también había dejado a la inteligencia del hombre, único escrutador del enigma del mundo, con esa llave maestra de superior condición a la que llamamos alma..."

Yo quisiera señalar, en conexión con lo expuesto por mi ilustre compañero, que las perspectivas entreabiertas por la ciencia al llegar a la fabricación de un ser vivo, es verdad que plantean numerosos problemas y no todos de orden puramente científico, por lo que interesan a un público amplio.

El deseo de producir vida artificial mente es antiquísimo, así como la creencia de que ello es posible, si no científicamente, de manera maravillosa. Aunque los progresos de la Química y de la Biología nos hayan revelado que no son cotos cerrados -y que, por tanto, existe una frontera natural entre ellas-, no por eso ha desaparecido por completo la otra mentalidad que consideraba imposible todo intento de fabricar la vida. El verdadero problema de la síntesis de la vida es, más que químico, funcional: fabricar moléculas es, sin duda, una gran cosa,

pero lo más importante y difícil es organizarlas. En la realidad concreta no basta disponer del material y de la energía necesarios para que todo suceda según nuestros deseos. Cuando se sintetizan los componentes de un virus; cuando están dispuestos en la proporción conveniente y en el orden requerido; cuando se logra enlazar unos a otros en la posición exacta que deban tener proporcionándoles la energía necesaria y en el punto preciso; cuando todos los componentes están perfectamente preparados; entonces es cuando -como ahora- se ha realizado una primera síntesis vital.

Ciertos partidarios del materialismo ateo han pretendido que si el hombre fuese capaz de fabricar un ser vivo, se deduciría de ello la no existencia de Dios, puesto que en tal caso la Creación sería inútil. Algunos creyentes, asustados ante estas perspectivas, han llegado a afirmar que es sacrilegio el sólo hecho de considerar la posibilidad de tal síntesis. Cedemos ante la idea de que la condición de creyente puede ser en ocasiones un tormento -fécundo- para la inteligencia no estamos de acuerdo con que la razón natural aplicada a los misterios de la fe produzca siempre la herejía. Sin embargo, a veces, cuando uno quiere ser consecuente con su fe y con su ciencia, y armonizar estas dos vías de acceso a la verdad, debe someterse a un crítica dolorosa y no siempre fácil. La elusión no es recomendable y todos y cada uno de nosotros tenemos la obligación moral de revisar y ampliar nuestros motivos de credulidad, sin eliminar lo carismático para entrar en un racionalismo aséptico. Conseguiremos de esta manera el máximo provecho intelectual y espiritual de la doctrina contenida en los dogmas.

No es optimismo vano señalar que actualmente están superadas las posiciones extremas y que se examinan las cosas con más serenidad. Por lo pronto, aunque el hombre logre construir, gracias a su genio, algo vivo -más perfecto que estos ácidos o desoxirribonucleicos fabricados con carácter infectivo-, la aparición del ser primero sobre la Tierra no quedaría así explicada. Que el hombre sea capaz, o no de sintetizar un ser viviente, no puede alterar en nada las circunstancias de una Génesis que se hizo sin él. En definitiva, el mundo científico está de acuerdo en el hecho de esta Génesis, en la que los sabios todo lo más que pueden hacer es indicamos algunas fases intermedias por las que pudiera haber pasado. Los creyentes debemos admitir que dicho acontecimiento ha podido seguir leyes naturales físicas y químicas, y las discrepancias surgen cuando uno inquiere las causas de aquel evento: entonces el problema se transforma en filosófico.

Si bien los progresos científicos no pueden modificar en nada el problema del origen primero, no sucede lo mismo con el tránsito posible de la materia inerte a la vida. Entre materia y vida parece existir un foso; pero nada se sabe sobre su situación exacta y, en consecuencia, no conocemos con precisión qué es lo que caracteriza a la vida. Sea cual fuere nuestra postura filosófica, e incluso religiosa, consideramos que la materia se distingue muy bien, en general, de la vida y que el hombre podrá algún día franquear con plenitud la barrera.

Estos tiempos nuestros, en que se han elaborado ácidos nucleicos biológicamente eficaces, cuyas partes se han sintetizado en el laboratorio, son fechas de una gran victoria científica y pueden iniciar en el mundo una nueva evolución, a la que se habrá dado así el primer impulso. Desde un punto de vista amplio y teórico, la síntesis de DNA activo presupone la dotación genética, único componente común de todos los seres vivos. Sin embargo, en el caso concreto del bacteriófago Phi-X174 sintetizado, debemos recordar que los primeros seres vivos aparecidos en nuestra tierra tardaron muchos millones de años antes de dar origen a los primitivos mamíferos. Además conviene que en vez de preocuparnos del final de la ruta, examinemos un instante su punto de partida y veamos si un virus puede ser el origen de todos los seres vivos. La realidad chocante para un biólogo es que el virus no parece un lugar de salida, sino más bien de llegada; puede ser el término de una evolución regresiva que, poco a poco, ha ido

privando a un ser vivo de sus órganos y de sus funciones características vitales para conservar únicamente el mínimo estrictamente necesario. Para que un virus origine seres más complejos que él, debería regresar, esto es *progresar*, no en el sentido hasta ahora seguido, sino, según Carles, retrocediendo para recuperar todo lo que se perdió. Como la evolución se ha mostrado irreversible, la síntesis artificial de un virus, ahora lograda, cabría que fuese una batalla ganada sin óptimas consecuencias todavía. Otro asunto sería, si se hubiese sintetizado una bacteria o un alga, ya que entonces hablaríamos con menos incertidumbre.

No obstante es fácil concretar dónde finaliza la inducción y dónde comienza la mutación. Haurowitz admite que algunos virus, después de desencadenar modificaciones inductivas, podrían llegar a promocionar cambios genéticos equivalentes a mutaciones, por un mecanismo similar a al de la transformación. Según Villar, es ésta una zona límite en la que un más detallado conocimiento conduciría a una comprensión más adecuada de la gama total de posibilidades de cambios evolutivos.

Comenzamos a comprender hoy los mecanismos naturales que han permitido la aparición de la vida sobre la Tierra y nos acercamos – supongamos que estamos ya- en el momento de realizar la síntesis de la vida en el laboratorio. Pero esto –y ahora lo repetimos con Chauchard-, no es para el hombre reemplazar a Dios, sino ejercer una actividad cocreadora legítima; es no inventar nada, sino utilizar las propiedades de la materia. El progreso científico obliga a rectificar a materialista y a espiritualistas a ultranza: los primero minimizan en mecanismos simplistas las propiedades de la vida; los segundos atribuyen todo, siempre, a una fuerza sobreañadida.

El materialismo debe reconocer que la especialidad de la vida tiende a la complejidad de la materia viviente. Se llega así científicamente a la evidencia de una finalidad de progreso inscrito en los poderes de la materia. Esto lógicamente debiera incitar a una reflexión completa sobre la significación del realismo hilemorfista. Infortunadamente, aquellos hombres de ciencia que son racionalistas inveterados -con un pobre conformismo bien pegado al terreno- no quieren franquear el umbral de la exploración científica, que consideran más que suficiente.

Sin pretender negar cuanto pueda explicarse por la acción de causas naturales, hay que admitir filosóficamente, a nuestro juicio, una intervención sobrenatural en el origen de la vida. Lo exige por lo menos la aparición del hombre en particular, y de la vida en general; independientemente de que se obtenga o no, artificialmente, la vida en el laboratorio. Sin embargo, coincidimos con Paniker en que la vida *in vitro*. no es imposible, que debe servir para purificar, tanto las concepciones científicas como las filosóficas de adherencias accidentales y de concomitancias inútiles. La llamada vida artificial estaría incluso más en consonancia con una concepción teológica de la vida, y de la realidad material, que otras visiones compartimentalistas.

La verdad científica se convierte en engaño a partir del instante en que se cree suficiente para explicarlo todo, sin sujetarse a otras verdades y, sobre todo, a la verdad subsistente, que es un Creador. Por encima de los fines puramente intelectuales, está la conciencia, la elección decisiva entre el bien y el mal, y la orientación profunda de la vida hacia los valores espirituales.

He dicho.

NOTA BIBLIOGRÁFICA

- BROWN, D. M. y TODD, A. R. «Ann. Rev. Biochem.», 24, 311, 1965.
- CARLES, J., *Hacia la conquista de la vida*, Edit. Aguilar, Madrid, 1960.
- CHARGAFF, E. y DAVIDSON, J. N., *The Nucleic Acids*, Vol. I, II y III, Edit. Academic Press, Nueva York, 1960.
- CHAUCHARD, P., «La Table Ronde», núm. 212, 144, 1965.
- EDITORIAL, «Med. et Hyg.», 26, 280, 1968.
- HARBERS, E., *Die Nucleinsäuren*, Edit. Thieme, Stuttgart, 1964.
- JOSSE, J. y EIGNER, J., «Ann. Rev. Biochem.», 35, 789, 1966.
- KAY, E. R. M., *Biochemistry*, Edit. The Mac Millan Company, Nueva York, 1966.
- KHORANA, H. G., Conferencia. VII International Congress of Biochemistry, Tokio, agosto 1967 y «Biochem.», J. 109, 706, 1968.
- KORNBERG, A., «J. Biol. Chem.», 233, 163, 1958; «New Scientist.», 36, 728, 1968; «Scientific American», 219, núm. 4, 64, 1965.
- KORNBERG, A. y GOULFAN, M., «En Chem. Eng. News», 45, 21, 1967.
- MONOD, J., Lección Inaugural. «College de France», París, 1967.
- NYGAARD, A. P. y otros, *The Biochemistry of Virus Replication*, Edit. Academic Press, Londres, Nueva York, 1968.
- OCHOA, S., «Memorias Academia de Ciencias y Artes de Barcelona», 35, 225, 1964.
- OCHOA, S. y cols., «Science», 122, 907, 1953; «J. Biol. Chem.», 211, 737, 1954; «J. Am. Chem. Soc.», 77, 3165, 1955; «Biochem. Biophys. Acta», 20, 26, 1957.
- PANIKER, R., «Orbis Catholicus», 12, 496, 1961.
- Pío XII, «Discurso Academia Pontificia de Ciencias», 22, XI, 1951.
- ROF CARBALLO, J., «Tercer Programa», 1, 4, 5, y 6. Edit. Nacional, Madrid, 1966.
- SANTOS RUIZ, A., «Anales Real Academia Farmacia», 26, 191, 1960, y «Nuestro Tiempo», núm. 67, 66, 1960.
- SCHMECK, H. M., «El Farmacéutico», 43, 11, 1968.
- SCHOLTISSEK, Ch., «Biochim. Biophys. Acta», 145, 238, 1967.
- SINSHEIMER, R. L., «Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.», 53, 7321, 1967.
- SPIEGELMAN, S., HARUNA, I., HOLLAND, I. B., BEAUDREAN, G. y MILLS, D., «Proc. Natl. Acad. Sc. U. S.», 54, 919, 1965.
- TEILHARD DE CHARDIN, *El fenómeno humano*, Edit. Taurus, Madrid, 1965.
- TORELLI, U. L., HENRY, P. H. y WEISSMAN, S. M., «J. Clin. Invest.», 47, 1083, 1968.
- VILAS LÓPEZ, L., «Discurso inauguración de curso del Instituto de España», Madrid, octubre 1966.
- VILLAR PALASÍ, V., «Rev. Univ. Madrid», 8, 187, 1959.
- VILLAR PALASÍ, V. y SANTOS RUIZ, A., *Tratado de Bioquímica*, Vols. I y II (3.ª ed.), Editorial Augusta, Barcelona, 1968.
- ZUBIRI, X., «Revista de Occidente», agosto 1964.