

Revisión

## La producción de vacunas y otros compuestos farmacéuticos en plantas transgénicas

Miguel A. Gómez Lim

Departamento de Ingeniería Genética, CINVESTAV-Irapuato, km 9.6 carretera Irapuato-León, Apartado Postal 629, Irapuato 36500, Guanajuato, México, Tel: 462-62-396-00; Fax: 462-396-50

Recibido el 4 de febrero del 2002; aceptado el 2 de mayo del 2002

*Dedicado al doctor Barbarín Arreguín Lozano*

**Resumen.** Aunque las plantas se han utilizado por miles de años con fines medicinales, ha sido recientemente que por medio de la ingeniería genética se han utilizado como biofábricas o biorreactores para producir diversos compuestos de interés farmacéutico. Dado que la demanda por estos compuestos va en aumento en todo el mundo, el uso de esta tecnología también está cada vez más extendido. Actualmente, el alto costo de muchos compuestos farmacéuticos limita su disponibilidad y aplicación. Los producidos en plantas transgénicas, son, por el contrario, baratos para producir y almacenar, de fácil escalamiento para producción en masa, y más seguros que los derivados de otros sistemas. En este artículo se analiza el avance en este campo.

**Palabras claves:** Plantas transgénicas, biorreactores, compuestos farmacéuticos, vacunas.

**Abstract.** Even though higher plants have been utilized for many years for medicinal purposes, it has been only recently that they have been engineered to serve as biorreactors to produce a number of pharmaceutical compounds. Considering the increasing need for these compounds at a world level, the use of plants for these purposes is also on the rise. The current cost of many of these compounds severely limits the availability and use. Plant-based compounds are, on the contrary, safe, cheap to produce and store and production can be easily scaled up. This article reviews the progress in the field.

**Keywords:** Transgenic plants, biorreactors, pharmaceutical compounds, vaccines.

El uso de reactores o biorreactores para la producción a nivel industrial de determinadas sustancias no es nuevo. Una gran cantidad de compuestos de diversos tipos (incluyendo farmacéuticos) se han estado produciendo por muchos años en diversos sistemas. Esto fue posible debido a que la mayoría de los genes de cualquier origen se pueden expresar en sistemas heterólogos. El sistema de expresión ideal sería el que produce el material en mayor cantidad, más seguro y biológicamente más activo con el costo más bajo. El uso de células de mamíferos modificadas con técnicas DNA recombinante tiene la ventaja de producir compuestos idénticos a los naturales, sin embargo, cultivar estas células es muy costoso y se puede realizar solamente en una escala limitada.

El uso de microorganismos tales como bacterias permite la producción a una escala mucho más grande, pero tiene la desventaja de originar productos que no son exactamente iguales a los de origen natural. Por ejemplo, aquellas proteínas que generalmente son glucosiladas (unir diversos azúcares a la molécula) en seres humanos no son glucosiladas por bacterias. Además, las proteínas humanas que se expresan en altos niveles en *Escherichia coli* adquieren con frecuencia una conformación artificial y son más propensas a precipitar intracelularmente debido, principalmente, a la carencia de puentes disulfuro y a un plegamiento inadecuado.

La producción de proteínas recombinantes en plantas tiene muchas ventajas potenciales para generar compuestos farmacéuticos de importancia en medicina clínica. En primer lugar, los sistemas vegetales son más económicos que la infraestructura industrial que se basa en el uso de sistemas de fermentación o en biorreactores. En segundo lugar, ya está disponible la tecnología para cosechar y procesar plantas y sus productos a escala industrial. En tercer lugar, el requisito de la purificación del compuesto puede ser eliminado cuando el tejido de la planta que contiene la proteína recombinante se utiliza como alimento (como en el caso de la vacunas comestibles (véase mas adelante). En cuarto lugar, se puede dirigir a las proteínas recombinantes a determinados compartimientos intracelulares, o expresarlos directamente en esos compartimientos (como por ejemplo el cloroplasto). En quinto lugar, se puede producir la proteína recombinante en plantas a escala industrial. Finalmente, los riesgos a la salud que se presentan por posible contaminación del producto recombinante con patógenos humanos son mínimos. Hay dos áreas en donde esta tecnología está teniendo un impacto importante, en la producción de anticuerpos y sus receptores y en la producción de vacunas comestibles.

**Tabla 1.** Planticuerpos terapéuticos y de diagnóstico.

Aplicación y especificidad	Promotor	Secuencias señales	Nombre o tipo de anticuerpo	Planta	Niveles de Expresión	Refs.
Caries dental; antígeno I o II de <i>S. mutans</i>	CaMV 35S	Murino IgG péptido señales	Guy's 13 (IgAs) <sup>a</sup>	<i>Nicotiana tabacum</i>	500 µg / g PF <sup>b</sup> hojas	[4, 9]
Diagnóstico; IgG anti-humano	CaMV 35S	Péptido señal	C5-1 (IgG) murino de IgG;	Alfalfa	1.0 % PST <sup>c</sup>	[6]
Tratamiento para cáncer; antígeno carcinoembrionario	Ubiquitina de Maíz	Péptido señal murino de IgG; KDEL	ScFvT84.66 (ScFv)	Trigo	900.0 ng/g hojas; 1.5 µg/g semillas	[3]
Tratamiento para cáncer; antígeno carcinoembrionario	Ubiquitina de Maíz	Péptido señal murino de IgG; KDEL	ScFvT84.66 (ScFv)	Arroz	29.0 µg/g hojas; 32.0 µg/g semillas; 3.8 µg/g	[2, 3]
Tratamiento para cáncer; antígeno carcinoembrionario	Doble promotor CaMV 35S	Péptido señal murino de IgG; KDEL	ScFvT84.66 (ScFv)	Arroz	27.0 µg/g hojas	[3]
Tratamiento para cáncer; antígeno carcinoembrionario	Doble promotor CaMV 35S	Líder Ω del TMV; Péptido señal murino de IgG;	T84.66 (IgG)	<i>Nicotiana tabacum</i>	1.0 µg/g hojas	[8]
Tratamiento para linfoma de células B; vacuna de idiotipos	Promotor subgenómico de la proteína de la cápside del TMV	α-amilasa de arroz	38C13 (scFv)	<i>Nicotiana benthamiana</i>	30.0 µg/g hojas	[38]
Cáncer; de colon antígeno de superficie	Promotor subgenómico U5 de la proteína de la cápside del TMV	Péptido señal murino de IgG; KDEL	CO17-1A (IgG)	<i>Nicotiana benthamiana</i>	No reportado	[39]
Herpes simplex virus 2	CaMV 35S de extensina de tabaco	Péptido señal (IgG)	Anti-HSV-2	Soya	No reportado	[5]

<sup>a</sup> IgAs, IgA secretora.

<sup>b</sup> FW, peso fresco.

<sup>c</sup> PST, proteína soluble total.

## Producción de anticuerpos en plantas transgénicas

Desde hace más de diez años las plantas han demostrado ser sistemas versátiles de producción para muchas formas de anticuerpos como IgG e IgA, IgG / IgA quiméricos y otros. Las plantas tienen un gran potencial como fuente virtualmente ilimitada de anticuerpos monoclonales baratos (llamados "planticuerpos") para terapia humana y animal (Tabla 1).

La mayoría de los anticuerpos expresados hasta la fecha han sido en tabaco, aunque también se han utilizado papa, soya, alfalfa, arroz y trigo [1, 2]. La ventaja principal de usar hojas (como en tabaco y alfalfa) para producir el anticuerpo es el rendimiento. Tanto la alfalfa como el tabaco pueden ser cosechados varias veces al año, con una producción potencial

de biomasa por año de 17 toneladas / ha y > 50 toneladas / ha, respectivamente. En contraste, la producción máxima de trigo, arroz o maíz, difícilmente rebasa las 6 toneladas / ha. Otras ventajas del tabaco incluyen su facilidad para manipulación genética, la producción de un gran número de semillas (hasta un millón por planta) y la imperiosa necesidad de explorar otros usos para este cultivo.

Los anticuerpos producidos en plantas son bastante estables tanto a temperatura ambiente [3] como a 4 °C [1]. El material vegetal que contiene al anticuerpo se puede almacenar y la purificación se puede realizar en una planta de procesamiento que no necesita estar cerca del lugar en donde están las plantas y se puede utilizar todo el año. Hay muchos ejemplos de anticuerpos y sus receptores producidos exitosamente en plantas (Tabla 1), aunque sólo uno de éstos se ha

**Table 2.** Proteínas con aplicaciones para vacunas humanas o animales expresadas en plantas transgénicas .

Origen de la proteína y especie blanco para la vacuna	Proteína o péptido expresado	Planta	Nivel máximo de expresión registrado en la planta de la vacuna	Integridad, inmunogenicidad y capacidad protectora	Refs.
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (para humano)	Subunidad B de la toxina sensible al calor	Tabaco	<0.01 % PTS <sup>a</sup>	La proteína intacta forma multímeros y es inmunogénica	[11]
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (para humano)	Subunidad B de la toxina sensible al calor	Papa	0.19 % PTS	Actividad inmunogénica, protectora y de unión al receptor	[11] [18] [21]
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (para humano)	Subunidad B de la toxina sensible al calor	Maíz	No reportado	Inmunogénica y protectora por administración oral	[26]
<i>Vibrio cholerae</i> (para humano)	Subunidad B de la toxina sensible al calor	Papa	0.30 % PTS	La proteína intacta forma multímeros, tiene actividad de unión	[15]
Virus de la hepatitis B (para humano)	Proteína superficial de la cubierta	Tabaco	al receptor y es inmunogénica y protectora por administración oral < 0.01 % PTS	Forma partículas tipo virus y la proteína extraída [19]	[12]
Virus de la hepatitis B (para humano)	Proteína superficial de la cubierta	Papa	es inmunogénica por administración por inyección < 0.01 % PF <sup>b</sup>	Inmunogénica por administración oral	[27]
Virus de la hepatitis B (para humano)	Proteína superficial de la cubierta	Lupino ( <i>Lupinus</i> spp.)	< 0.01 % PF	Inmunogénica por administración oral	[23]
Virus de la hepatitis B (para humano)	Proteína superficial de la cubierta	Lechuga	<0.01% PF	Inmunogénica por administración oral	[23]
Virus de Norwalk (para humano)	Proteína de la cápside	Tabaco	0.23 % PTS	Forma partículas tipo virus, inmunogénica	[13]
Virus de Norwalk (para humano)	Proteína de la cápside	Papa	por administración oral 0.37 % PTS	Forma partículas tipo virus, inmunogénica	[13, 21]
Virus de la rabia (para humano)	Glicoproteína	Tomate	por administración oral 1.00 % PTS	Proteína intacta	[14]
Citomegalovirus humano (para humano)	Glicoproteína B	Tabaco	< 0.02 % PTS	Proteína inmunológicamente	[29]
Virus hemorrágico de conejos (para conejos)	VP60	Papa	relacionada 0.30 % PTS	Inmunogénica y protectora por administración	[24]
Foot-and-mouth disease virus (para animales de granja y domésticos)	VP1	Arabidopsis	por inyección No reportado	Inmunogénica y protectora por administración por inyección	[16]
Foot-and-mouth disease virus (para animales de granja y domésticos)	VP1	Alfalfa	No reportado	Inmunogénica y protectora por administración por	[20]
Coronavirus transmisible de la gastroenteritis (para cerdos)	Glicoproteína S	Arabidopsis	inyección o por vía oral 0.06 % PTS	Inmunogénica y protectora por administración por inyección	[17]
Coronavirus transmisible de la gastroenteritis (para cerdos)	Glicoproteína S	Tabaco	0.20 % PTS	Proteína intacta e inmunogénica por administración por inyección	[25]
Coronavirus transmisible de la gastroenteritis (para cerdos)	Glicoproteína S	Maíz	< 0.01 % PF	Protectora por administración por vía oral	[26]

<sup>a</sup> PTS, proteína total soluble.<sup>b</sup> PF, peso fresco.

probado en seres humanos: un anticuerpo secretor quimérico de IgG / IgA contra un antígeno superficial de *Streptococcus mutans*, el agente causal de la caries dental. Este anticuerpo producido en tabaco fue aplicado tópicamente a los dientes de varios voluntarios y se encontró que era tan eficaz como un IgG producido en un hibridoma de ratón para prevenir la recolonización de las encías por *S. mutans* [4]. Para dar otro ejemplo, un anticuerpo contra el virus del herpes (HSV) fue producido en soya y fue muy eficaz en la prevención de la infección vaginal por HSV en ratón [5].

Un aspecto importante que se ha destacado de la producción de anticuerpos en plantas es el potencial bajo costo de producción. Hay pocos estudios de costos y por eso las estimaciones disponibles implican muchas suposiciones. El costo para producir IgG en alfalfa crecida en un invernadero de 250 m<sup>2</sup> se estimó en 500-600 dólares / g, comparados con 5000 dólares/g para el mismo anticuerpo pero producido por hibridomas (células cancerosas en cultivo *in vitro*) [6]. Es indudable que los niveles de expresión tendrán un impacto significativo en los costos, por ello en el nivel de expresión más alto reportado para un anticuerpo (500 µg / g de hoja para una IgA secretada [4], el costo final se estimó muy por debajo de 50 dólares / g. Esto contrasta ostensiblemente con los costos de anticuerpo purificado obtenido por cultivo de células (1000 dólares / g) o a partir de animales transgénicos (100 dólares / g). El componente más importante del costo de los planticuerpos será la purificación. Sin embargo, la expresión en gérmenes de arroz y trigo [3] abre la posibilidad de administración oral de algunos anticuerpos terapéuticos sin necesidad de purificación. Sin embargo, a pesar de todas estas ventajas, aún no se produce ningún anticuerpo en plantas a nivel comercial.

Mucho anticuerpos son sujetos a un proceso post-traduccional de glucosilación el cual es crítico para su actividad. Sólo hay un estudio reportado en donde se analiza la glucosilación de un anticuerpo producido en plantas con el producido en hibridomas de ratón [7]. Se encontró que los azúcares en el anticuerpo derivado de plantas eran estructuralmente más diversos, siendo el 40% del tipo manosa. El otro 60% tenía enlaces tipo β-(1,2)-xilosa y β-(1,3)-fucosa. Estos enlaces son típicos de plantas pero no se encuentran en mamíferos. El ácido siálico, que representaba el ~10% del contenido de azúcar del anticuerpo monoclonal de ratón, no se encontró en el anticuerpo de plantas. Sin embargo, estas diferencias en estructura parecen no tener ningún efecto sobre la unión al antígeno o sobre la afinidad *in vitro* [4-6, 8] y pudieran, igualmente, no ser importantes *in vivo*. Un IgG producido en alfalfa tuvo una vida media en suero en ratones Balb/c similar a la de un anticuerpo producido en hibridomas [6].

Aunque ha habido una cierta preocupación por la inmunogenicidad potencial y la capacidad alérgica de los planticuerpos, es probable que éstos no presenten problemas para la mayoría de la gente porque las glucoproteínas de plantas son ubicuas en la dieta humana. En este sentido, no hubo evidencia de una reacción alérgica a un anticuerpo humano anti-ratón (HAMA) en 60 pacientes que recibieron la aplicación oral tópica de IgA secretora específica para *S. mutans* [9].

## Vacunas comestibles

La producción de diversos antígenos en plantas transgénicas es un hecho demostrado desde hace años [10]. El interés para hacer estos experimentos fue que determinadas proteínas inmunogénicas clave del patógeno se podrían sintetizar en plantas y después usar el tejido vegetal como vacunas comestibles en seres humanos o en animales. Se ha demostrado que esta idea es totalmente viable usando diversas proteínas bacterianas y virales (Tabla 2).

Actualmente, la vacunación en gran escala enfrenta una serie de dificultades: Por un lado, los altos costos de las vacunas, y por el otro, el riesgo de que la distribución en lugares remotos y de difícil acceso no sea adecuada. La mayoría de las vacunas disponibles se aplican vía parenteral (inyecciones). La Organización Mundial de la Salud ha recomendado en diversas ocasiones la búsqueda de alternativas para sustituir a las inyecciones, debido a que ha encontrado en algunos países que hasta un 30 % de las inyecciones se realizan con jeringas no estériles, debido a los problemas económicos de esos lugares. Considerando el grave problema del SIDA, este hecho es de gran relevancia. La aplicación de vacunas vía oral es una buena alternativa para las vacunas vía parenteral, en gran parte por razones de bajo costo y fácil administración. Igualmente, con las vacunas orales se incrementa la probabilidad de adquirir inmunidad en mucosas contra los agentes infecciosos que entran el cuerpo a través de una superficie mucosal.

Una preocupación importante con las vacunas orales es la degradación de los antígenos en el estómago e intestino antes de que puedan inducir una respuesta inmune. Para protegerlos de la degradación, se han desarrollado varios métodos. Entre éstos se encuentran el uso de cepas recombinantes de microorganismos atenuados (*v.gr. Salmonella*), de vehículos de bioencapsulación tales como liposomas y finalmente las plantas transgénicas. En los primeros trabajos con vacunas derivadas de plantas se utilizaron el tabaco y la papa [11-14]. En teoría, la especie ideal para expresar los antígenos debería consumirse en fresco y tener altos niveles de proteína soluble; en este sentido, frutos como el plátano y el jitomate o, alternativamente, los cereales, son sistemas convenientes para este fin.

Algunos ejemplos que ilustran la variedad de antígenos expresados en plantas transgénicas se dan en la Tabla 2. Los antígenos derivados de plantas han inducido respuestas inmunes a nivel de mucosa y de suero, cuando han sido administrados tanto con inyecciones como por vía oral en animales de laboratorio y, en varios experimentos, los han protegido contra el patógeno [11, 13, 15-20]. De la misma manera, se han realizado exitosamente varias pruebas clínicas con voluntarios humanos en las cuales los antígenos consumidos por vía oral en tejido vegetal fueron capaces de inducir una respuesta inmune significativa [21-26]. Por esta razón, se considera que las vacunas preparadas en plantas tienen un gran potencial. La bioencapsulación de la subunidad B de la toxina lábil de *Escherichia coli* en maíz transgénico indujo una fuerte respuesta inmune en ratones, en comparación con la alcanzada con el antígeno

**Tabla 3.** Producción de proteínas de importancia en la salud humana producidas en plantas transgénicas.

Aplicación o indicación potencial	Planta	Proteína	Niveles de expresión	Refs <sup>a</sup>
Proteínas humanas				
Anticoagulante	Tabaco	Proteína C humana	< 0.01 % PTS <sup>b</sup>	[40]
Inhibidor de trombina	Canola ( <i>Brassica napus</i> )	Hirudina humana	0.30 % proteína de las semillas	[40]
Neutropenia	Tabaco	Factor GM-CS humano	No reportado	[41]
Hormona de crecimiento	Tabaco	Somatotropina humana	7.00 % PTS	[42]
Hormona de crecimiento	Tabaco	Expresión nuclear	< 0.01 % PTS	[42]
Anemia	Tabaco	Eritropoietina humana	< 0.01 PTS	[43]
Antihiperanalgésico	Arabidopsis	Encefalina humana	0.10 % proteína de las semillas	[43]
Reparación de heridas y control de proliferación celular	Tabaco	Factor de crecimiento epidérmico humano	<0.01% PTS	[40]
Tratamiento para la hepatitis C y B	Arroz, Nabo ( <i>Brassica rapa</i> )	Interferón- $\beta$ humano	No reportado	[40]
Tratamiento para la hepatitis C y B	Tabaco	Interferón- $\beta$ humano	< 0.01% peso fresco	[43]
Cirrosis hepática, quemaduras, cirugía	Tabaco	Sero albúmina humana	0.02 % PTS	[43]
Sustituto de la sangre	Tabaco	Hemoglobina $\alpha,\beta$ humana	0.05 % proteína de las semillas	[40]
Colágena	Tabaco	Colágena homotrimérica humana	< 0.01 % peso fresco	[44]
Fibrosis quística, enfermedades hepáticas y hemorragia	Arroz	$\alpha$ -1-antitripsina humana	No reportado	[41]
Inhibidor de tripsina para cirugía de trasplantes	Maíz	Aprotinina humana	No reportado	[41]
Antimicrobiano	Papa	Lactoferrina humana	0.10% PTS	[45]
Proteínas no humanas				
Hipertensión	Tabaco, tomate	Enzima convertidora de angiotensina	No reportado	[41]
Terapias HIV-SIDA	<i>Nicotiana bethamiana</i>	$\alpha$ -Tricosantina de TMV-U1 Proteína de la cápside subgenómica	2.00% PTS	[41]
Enfermedad de Gaucher	Tabaco	Glucocerebrosidasa	1.00-10.00% PTS	[40]

<sup>a</sup> Por razones de espacio, se cita la revisión en donde se encuentran las citas originales.

<sup>b</sup> PTS, proteína total soluble.

desnudo que fue más débil [26]. Probablemente, esto se debió a que el antígeno estaba protegido contra la degradación en el intestino.

La cantidad de tejido vegetal que constituya una dosis de vacuna debe de ser pequeña. Por ello, alcanzar altos niveles de expresión del antígeno en el tejido vegetal es muy importante. Se han utilizado diferentes estrategias para aumentar los niveles de expresión de los transgenes, por ejemplo, utilizando diversas señales de regulación de la expresión genética [27] así como optimizando el uso de codones [18, 25, 26]. Los niveles de expresión se podrían también elevar a través de cruces de líneas transformadas con líneas establecidas y bien caracterizadas, una estrategia que se ha aplicado con éxito para aumentar la producción de proteína total en maíz. Es

también importante que cualquier antígeno esté presente en su forma nativa en el tejido vegetal. Esto normalmente se evalúa examinando el tamaño de la proteína sintetizada, su capacidad de formar las estructuras adecuadas (por ejemplo, partículas tipo virus) y, cuando sea relevante, demostrando actividad enzimática o de unión a un receptor [11-14, 18, 20, 25, 28]. La estabilidad de las proteínas heterólogas y el ensamblaje de estructuras multiméricas dependen en buena medida de la localización subcelular. Hasta ahora, los principales lugares en donde se han expresado antígenos son la superficie celular, el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi [11, 25, 27-29]. Estos sitios han permitido la producción de antígenos funcionales, sin embargo, hay sugerencias para probar otros compartimientos celulares como por ejemplo el cloroplasto.

Una estrategia relacionada con la de vacunas comestibles utiliza plantas transgénicas para que expresan autoantígenos, por lo que una dosis oral de un autoantígeno puede inhibir el desarrollo de una enfermedad autoinmune a través del mecanismo de tolerancia. Este enfoque ha sido utilizado exitosamente en un modelo de diabetes en ratón [30].

Actualmente en el laboratorio del autor, en la Unidad Irapuato, se trabaja en la producción de plantas transgénicas principalmente de plátano y jitomate que contengan diversos antígenos con la idea de generar vacunas comestibles. Los antígenos con los que se trabaja van desde diversos epítomos de *Plasmodium falciparum*, hasta antígenos de rotavirus, hepatitis B, HIV-SIDA y algunos antígenos de cáncer. Sin embargo, a diferencia de otros grupos que también trabajan en esta área, en el laboratorio se intenta inducir una respuesta inmune de tipo celular específicamente, utilizando como adyuvantes moléculas de citocinas y quimiocinas que induzcan de preferencia interferón  $\gamma$ . Esta estrategia ya ha sido utilizada anteriormente [31-33], aunque no con plantas ni por vía oral, sino por vía parenteral. De esta manera, nosotros esperamos no solamente inducir una respuesta inmune, sino queremos influir en el tipo de respuesta. En los trabajos reportados, por lo regular se ha inducido una respuesta inmune de tipo hormonal, que no siempre es la más efectiva, contra infecciones parasitarias o virales. Nosotros intentamos generar la respuesta adecuada para este tipo de infecciones.

### Los niveles de expresión de compuestos biofarmacéuticos en plantas transgénicas

En general, los niveles de expresión de las proteínas con aplicación farmacéutica producidas en plantas transgénicas han sido de menos del 1% de la proteína soluble total (Tabla 3). Este límite del 1% es muy importante para una posible aplicación comercial, si la proteína se debe purificar [34]. El antígeno de superficie del virus de la hepatitis-B indujo solamente una respuesta de bajo nivel en anticuerpos séricos en un estudio en voluntarios humanos, reflejando probablemente el bajo nivel de la expresión (1-5 ng / g de peso fresco) en lechuga transgénica [23]. A pesar de mejoras recientes en niveles de expresión en papa con vistas a ensayos clínicos [27], los niveles de expresión se deben aumentar aún más para propósitos prácticos. Aunque la proteína de la cápsida del virus Norwalk expresada en papa indujo inmunización cuando se consumió por vía oral, los niveles de la expresión son demasiado bajos para la administración oral en gran escala (0.37 % de proteína soluble total) [13, 22]. La expresión de los genes que codificaban para otras proteínas humanas en plantas transgénicas ha sido muy baja: albúmina humana del suero, 0.020 % PTS; proteína humana C, 0,001 % PTS; eritropoietina ~0.003 % PTS; e interferón humano- $\beta$ , < 0,001 % PTS (Tabla 2). A pesar de varios reportes sobre altos niveles de expresión, hay una necesidad imperiosa de encontrar mecanismos para aumentar los niveles de la expresión de las proteínas heterólogas para permitir su producción comercial en plantas.

### Perspectivas futuras

Antes de cualquier aplicación en gran escala, los compuestos farmacéuticos derivados de plantas deberán cumplir con los mismos estándares de seguridad y funcionamiento que son requeridos en otros sistemas de producción. Sin embargo, muchas medicinas tradicionales están ahora exentas de tal escrutinio y no se les exige cumplir con esos estándares debido a su clasificación como suplementos alimenticios. Debido a las diversas preocupaciones ambientales sobre los organismos genéticamente manipulados que han sido expresadas por grupos ecologistas que confunden a la opinión pública, es de la mayor importancia que existan normas para regular a este tipo de organismos. Es importante distinguir entre las preocupaciones públicas verdaderas y las percibidas (científicas contra no-científicas). Si los compuestos farmacéuticos derivados de plantas son potencialmente dañinos, capaces de persistir en el ambiente y se pueden acumular en organismos no-blanco, entonces deben tomarse las medidas adecuadas.

Un tópico de discusión muy importante ha sido la dispersión del polen transgénico a hierbas o a especies relacionadas [35]. Actualmente, se están investigando varios métodos para contener a los transgenes, incluyendo apomixis, genomas incompatibles, control de la latencia del germen, genes suicidas, las barreras de infertilidad, esterilidad masculina y herencia materna. En el caso de México, al trabajar en plátano, se reducen los posibles riesgos dado que el plátano es una especie estéril que no produce polen y además el plátano siendo originario de Asia, no tienen parientes cercanos en México.

Hay también preocupación por la expresión de determinadas proteínas en polen transgénico. Por ejemplo, la observación del efecto tóxico del polen de maíz transgénico que contiene la proteína cristal de *Bacillus thuringiensis* (Bt) en las larvas de la mariposa monarca, tuvieron un impacto significativo en la opinión pública, aunque la validez de este estudio se ha cuestionado en varias ocasiones y los mismos autores hayan establecido que los resultados no son confiables. Otra preocupación pública es la presencia de genes de resistencia a antibióticos o sus productos (que se utilizan como marcadores de selección) en partes comestibles de cultivos genéticamente modificados. Sin embargo, existen ahora varias alternativas para generar plantas con transgenes en sus núcleos [36] o en los cloroplastos [37] sin el uso de antibióticos.

Por todo lo anterior, queda claro el enorme potencial que tiene esta tecnología para producir compuestos de interés farmacéutico y vacunas. Para seleccionar el cultivo adecuado para la producción, será necesario considerar diversos factores como niveles de producción, condiciones de almacenamiento, costos de establecimiento y operación, estrategias de purificación, tamaño del mercado, preocupaciones ambientales, opinión pública y tecnologías alternativas.

## Referencias

1. Artsaenko, O.; Barbara Kettig, B.; Fiedler, U., Conrad, U.; Düring, K. *et al.* *Mol. Breed.* **1998**, *4*, 313-319.
2. Torres, E.; Vaquero, C.; Nicholson, L.; Sack, M.; Stoger, E.; Drossard, J.; Christou, P.; Fischer, R.; Perrin, Y. *Transgenic Res.* **1999**, *8*, 441-449.
3. Stoger, E.; Vaquero, C.; Torres, E.; Sack, M.; Nicholson, L.; Drossard, J.; Williams, S.; Keen, D.; Perrin, Y.; Christou, P.; Fischer, R. *Plant Mol. Biol.* **2000**, *42*, 583-590.
4. Ma, J.K. Hikmat, B.Y.; Wycoff, K.; Vine, N.D. Hein, M.B. *Science* **1995**, *268*, 716-719.
5. Zeitlin, L.; Olmsted, S.S.; Moench, T.R.; Co, M.S.; Martinell, B.J.; Paradkar, V.M.; Russell, D.R.; Queen, C.; Cone, R.A.; Whaley, K.J. *Nat. Biotechnol.* **1998**, *16*, 1361-1364.
6. Khoudi, H.; Laberge, S.; Ferullo, J.M.; Bazin, R.; Darveau, A.; Castonguay, Y.; Allard, G.; Lemieux, R.; Vezina, L.P. *Biotechnol. Bioeng.* **1999**, *64*, 135-143.
7. Cabanes-Macheteau, M.; Fitchette-Laine, A.C.; Loutelier-Bourhis, C.; Lange, C.; Vine, N.D.; Ma, J.K.; Lerouge, P.; Faye, L. *Glycobiology* **1999**, *9*, 365-372.
8. Vaquero, C.; Sack, M.; Chandler, J.; Drossard, J.; Schuster, F.; Monecke, M.; Schillberg, S.; Fischer, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 11128-11133.
9. Ma J.K.C.; Hikmat, B.Y.; Wycoff, K.; Vine, N.D.; Chargelegue, D.; Yu, L.; Hein, M.B.; Lehner, T. *Nat. Med.* **1998**, *4*, 601-606.
10. Mor, T.S.; Gómez-Lim, M.A.; Palmer, K.E. *Trends Microbiol.* **1998**, *6*, 449-453.
11. Haq, T. A.; Mason, H.S.; Clements, J.D.; Arntzen, C.J. *Science* **1995**, *268*, 714-716.
12. Mason, H.S.; Lam, D.M.; Arntzen, C.J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1992**, *89*, 11745-11749.
13. Mason, H.S.; Mason, H.S.; Ball, J.M.; Shi, J.J.; Jiang, X.; Estes, M.K.; Arntzen, C.J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1996**, *93*, 5335-5340.
14. McGarvey, P.B.; Hammond, J.; Dienelt, M.M.; Hooper, D.C., Fu, D.Z.; Dietzschold, B.; Koprowski, H.; Michaels, F.H. *Biotechnology* **1995**, *13*, 1484-1487.
15. Arakawa, T.; Chong, D.K.X.; Langridge, W.H.R. *Nat. Biotechnol.* **1998**, *16*, 292-297.
16. Carrillo, C.; Wigdorovitz, A.; Oliveros, J.C.; Zamorano, P.I.; Sadir, A.M.; Gomez, N.; Salinas, J.; Escribano, J.M.; Borca, M.V. *J. Virol.* **1998**, *72*, 1688-1690.
17. Gomez, N.; Carrillo, C.; Salinas, J.; Parra, F.; Borca, M.V. *Virology* **1998**, *249*, 352-358.
18. Mason, H.S.; Haq, T.A.; Clements, J.D.; Arntzen, C.J. *Vaccine* **1998**, *16*, 1336-1343.
19. Thanavala, Y.; Yang, Y.F.; Lyons, P.; Mason, H.S.; Arntzen, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1995**, *92*, 3358-3361.
20. Wigdorovitz, A.; Perez Filgueira, D.M.; Robertson, N.; Carrillo, C.; Sadir, A.M.; Morris, T.J.; Borca, M.V. *Virology* **1999**, *255*, 347-353.
21. Tacket, C.O.; Mason, H.S.; Losonsky, G.; Clements, J.D.; Levine, M.M.; Arntzen, C.J. *Nat. Med.* **1998**, *4*, 607-609.
22. Tacket, C.O.; Mason, H.S.; Losonsky, G.; Estes, M.K.; Levine, M.M.; Arntzen, C.J. *J. Infect. Dis.* **2000**, *182*, 302-305.
23. Kapusta, J.; Modelska, A.; Figlerowicz, M.; Pniewski, T.; Letellier, M.; Lisowa, O.; Yusibov, V.; Koprowski, H.; Plucienniczak, A.; Legocki, A.B. *FASEB J.* **1999**, *13*, 1796-1799.
24. Castanon, S.; Marin, M.S.; Martin-Alonso, J.M.; Boga, J.A.; Casais, R.; Humara, J.M.; Ordas, R.J.; Parra, F. *J. Virol.* **1999**, *73*, 4452-4455.
25. Tuboly, T.; Yu, W.; Bailey, A.; Degrandis, S.; Du, S.; Erickson, L.; Nagy, E. *Vaccine* **2000**, *18*, 2023-2028.
26. Streatfield, S.J.; Jilka, J.M.; Hood, E.E.; Turner, D.D.; Bailey, M.R.; Mayor, J.M.; Woodard, S.L.; Beifuss, K.K.; Horn, M.E.; Delaney, D.E.; Tizard, I.R.; Howard, J.A. *Vaccine* **2001**, *19*, 2742-2748.
27. Richter, L.J.; Thanavala, Y.; Arntzen, C.J.; Mason, H.S. *Nat. Biotechnol.* **2001**, *18*, 1167-1171.
28. Arakawa, T.; Chong, D.K.; Merritt, J.L.; Langridge, W.H. *Transgenic Res.* **1997**, *6*, 403-413.
29. Tackaberry, E.S.; Tackaberry, E.S.; Dudani, A.K.; Prior, F.; Tocchi, M.; Sardana, R.; Altosaar, I.; Ganz, P.R. *Vaccine* **1999**, *17*, 3020-3029.
30. Ma, S.W.; Zhao, D.L.; Yin, Z.Q.; Mukherjee, R.; Singh, B.; Qin, H.Y.; Stiller, C.R.; Jevnikar, A.M. *Nat. Med.* **1997**, *3*, 793-796.
31. Alonso, L.C.C.; Scharton, T.M.; Viera, L.Z.; Wysocka, M.; Trinchieri, G.; Scott, P. *Science* **1994**, *263*, 235-237.
32. Noguchi, Y.; Richards, E.C.; Chen, Y.T.; Old, L.J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*: 2219-2223.
33. Bokaya, P.N.; Marinaro, M.R.; Jackson, R.J.; Menon, S.; Kiyono, Jirillo, E.; McGhee, J.R. *J. Immunol.* **1999**, *162*: 122-128.
34. Kusnadi, A.; Evangelista, R.L.; Hood, E.E.; Howard, J.A.; Nikolov, Z.L. *Biotechnol. Bioeng.* **1997**, *56*, 473-484.
35. Daniell, H. (1999) *Trends Plant Sci.* **1999**, *4*, 467-469.
36. Puchta, H. *Trends Plant Sci.* **2000**, *5*, 273-274.
37. Daniell, H.; Muthukumar, B.; Lee, S.B. *Curr. Genet.* **2001**, *39*, 109-16.
38. McCornick, A.A.; Kumagai, M.H.; Hanley, K.; Turpen, T.H.; Hakim, I. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 703-708.
39. Verch, T.; Verch, T.; Yusibov, V.; Koprowski, H. *J. Immunol. Methods* **1998**, *220*, 69-75.
40. Cramer, C.; Cramer C.L.; Boothe, J.G.; Oishi, K.K. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **1999**, *240*, 95-118.
41. Giddings, G. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2001**, *12*, 450-454.
42. Staub, J.M.; Staub, J.M.; García, B.; Graves, J.; Tajdukiewicz, P.T. *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 333-338.
43. Kusnadi, A.R.; Nikolov, Z.L.; Howard, J.A. *Biotechnol. Bioeng.* **1997**, *56*, 473-484.
44. Ruggiero, F.; Exposito, J.Y.; Bournat, P.; Gruber, V.; Perret, S. *FEBS Lett.* **2000**, *469*, 132-136.
45. Chong, D.K.X.; Langridge, W.H. *Transgenic Res.* **2000**, *9*, 71-78.