

LA BIOFÍSICA COMO BASE INNOVADORA DE LA NANOBIOTECNOLOGIA

Dr. E. Aníbal Disalvo

Profesor Titular UNSE

Investigador Superior del CONICET

Qué es Biofísica?

La biofísica puede definirse como un puente entre dos disciplinas clásicas: la Biología y la Física. La Biología estudia las diferentes variedades de vida y su complejidad, describiendo sus hábitos de alimentación, comunicación, relación con el medio y reproducción. Por su parte, la Física se concentra en las leyes matemáticas de la naturaleza y realiza predicciones precisas de las fuerzas que conducen los procesos en sistemas ideales. Esta acepción implica entonces enriquecer la Biología descriptiva, macroscópica y morfológica, con un aporte cuantitativo, predictivo y generalizador que acorta, en principio, la distancia entre la simplicidad de los sistemas ideales de la Física y la complejidad de los sistemas vivos.

Sin embargo, la Biofísica es más que una vía de conexión en la frontera entre esas dos disciplinas liminares, sino que es más bien una amalgama de la Física, la Química y la Biología. Esto quiere decir que trasciende y supera las formulaciones y modelos para sistemas simples describiendo molecularmente procesos de transformación complejos en sistemas multicomponentes y autoorganizados (Misteli 2001). De esta manera, la Biofísica no es una rama de la Física ni de la Biología, como subaplicación de ellas, sino que es una disciplina autónoma, superadora, abarcativa y contenedora de los fenómenos químicos en sistemas biológicos. Al introducir a los procesos químicos para comprender integralmente los sistemas biológicos, esta disciplina debería ser más adecuadamente descripta como **Biofísicoquímica**, aunque por simplicidad seguiremos llamándola Biofísica con esta salvedad (Disalvo 1987).

Los hitos en la historia de la ciencia por los que se superaron paradigmas clásicos de la Física fueron, por un lado, el intento de resolver el problema de la vida a nivel molecular a través de criterios químicos y por otro, relacionado con

el primero, la extensión de la termodinámica a los sistemas abiertos, es decir, aquellos que contemplan las reacciones químicas con intercambio de energía y materia con su entorno. Esto trajo, como consecuencia, focalizar los estados apartados del equilibrio, es decir, la aparición de gradientes, eventualmente en estado estacionario (Nicolis & Prigogine, 1977).

La visión microscópica molecular fue anticipada cuando, en su conferencia de Dublin en 1943, Schrödinger vincula la química molecular con la biología, proponiendo, mucho antes de la determinación de la estructura del ADN, "*la existencia de alguna clase de molécula-plantilla que genera un cambio de sustancia hereditaria*". La predicción de la información química impresa en el ADN, dio un impulso definitivo hacia la biofísica que hoy conocemos y son las bases de la Biología Molecular. Sin embargo, sin proteínas ni redes metabólicas de aminoácidos o de intermediarios recursivos energéticamente impulsados, los genes son impotentes. Más aún, estos procesos tampoco prosperarían si no se llevaran a cabo en entornos restringidos encerrados por las membranas celulares constituidas por lípidos. Por último, nada de esto ocurriría si el solvente fuera otro disitinto al agua, componente largamente ignorado hasta estos últimos años y primordial agente estabilizador y funcional (Disalvo et al ,2004). Como consecuencia, el paradigma para entender a la materia de la vida, es entender como átomos de oxígeno, carbono e hidrógeno, se transforman y organizan, desde moléculas hasta estructuras supramoleculares, reconciliando las reacciones químicas de combustión del metabolismo con la síntesis.

El planteo reduccionista de la Biología Molecular se expande con el enfoque integrador de la incorporación de los procesos químicos en la comprensión de los fenómenos biológicos al introducir la determinación de flujos de energía entre sistema y entorno, a través de la termodinámica de sistemas fuera del equilibrio. En esta dirección, Schrödinger (1947) introdujo el término de *entropía negativa* para conciliar la termodinámica con la biología con el cual pretendió explicar la organización de los sistemas vivos en un universo que tiende inexorablemente al desorden.

Esta entropía negativa fue rigurosamente definida y descrita por el concepto de la energía disponible para realizar trabajo, la energía libre, magistralmente introducida por Gibbs

$$-T \Delta S_u = \Delta G$$

donde ΔS_u es la entropía del universo y ΔG la energía libre en el sistema. (Disalvo 2007). Siendo la Termodinámica la ciencia de los procesos espontáneos, “el impetu” de las cosas, el enfoque termodinámico de la evolución nos permite compatibilizar la “vitalidad” de la vida con el desarrollo de los procesos físicoquímicos.

Con la introducción de los mecanismos moleculares de reacciones químicas en sistemas abiertos, la Biofísica es hoy una disciplina autónoma que, rigurosamente definida se identifica como la **biofísicoquímica**, ciencia multidisciplinaria por excelencia que trata del funcionamiento de los sistemas vivos como sistemas químicos abiertos, complejos, autoensamblables, autoorganizados y autoreproducibles a nivel molecular y supramolecular que operan con el principio de mínima energía (Lehninger 1975).

El estudio de los sistemas biológicos a través de la Biofísica ha desembocado en lo que hoy se conoce como ciencia de la complejidad. Esta nueva visión contempla las propiedades emergentes e intenta integrar los enfoques reduccionistas (Biología Molecular) y holísticos (Termodinámica) en el marco de los denominados sistemas complejos (Bertalanffy, 1968). Complejización significa que el sistema es capaz de construirse y reconstruirse de muchas maneras. Así, la Biofísicoquímica o simplemente Biofísica tiene capacidad de hacerlo a sí misma en respuesta a problemas que la desafían, y al dar respuesta a ellos, se convierte en una ciencia que construye información nueva o sea conduce a la innovación.

Con estos aportes, en la Biofísica convergen, se complementan y auto alimentan los estudios de los fenómenos macroscópicos a través de la termodinámica, la cinética, la fotoquímica y la electroquímica y los enfoques mesoscópicos y microscópicos (estructura molecular, de micro y nano ensambles, y mecanismos de reacciones químicas y de transporte de materia, carga y energía).

Por esta razón, hoy es la rama de las ciencias que más se adecúa a resolver problemas en donde están involucrados multitud de variables, estructuras y condiciones.

La célula como unidad Biofísica.

El nacimiento de la Biofísica se potencia cuando el conocimiento de los procesos metabólicos y fisiológicos, mayormente en humanos, busca respuestas a nivel molecular y celular, tomando a la célula como la unidad biofísica por excelencia. La célula es la individualidad biológica y termodinámica que depende de una membrana semipermeable como transductor de energía y de materia que proporciona una sede microscópica para mantener los procesos fuera del equilibrio.

Con el avance impresionante de métodos físicos aplicados a materiales biológicos como la difracción de rayos x y de neutrones, la resonancia nuclear magnética, la espectroscopía Raman e Infrarroja en todas sus variables se ha podido obtener información sobre tamaño de células, espesores de membranas, estructura de proteínas y ácidos nucleicos en soluciones acuosas y en membranas, dando detalles moleculares de orientación y dinámica de grupos químicos de los componentes celulares y estado del agua, entre otros.

Más recientemente, con las facilidades computacionales, se han podido desarrollar métodos de cálculo por dinámica molecular y simulación que, nutriéndose de los datos aportados por las vertientes molecular y termodinámica anteriores, ha inaugurado una nueva avenida interconectadas con ellas.

En su proyección desde la fisiología, la biofísica aporta una visión integrada de la célula y sus procesos incorporando los hallazgos de la bioquímica en cuanto a tipo y estructura de componentes aislados de la célula. El aislamiento de los componentes de las membranas (proteínas y lípidos) dio lugar en primer lugar a la implementación (por una observación casual por parte de Bangham, 1974) de los hoy utilizados rutinariamente liposomas o vesículas lipídicas en todas sus formas y composiciones. La Biofísica ha progresado enormemente gracias al uso de estos sistemas experimentales modelo derivados de la posibilidad de formar partículas semejantes a las células con moléculas aisladas como lípidos,

proteínas y ácidos nucleicos (liposomas, vesículas, micelas, proteoliposomas, células artificiales)

En una breve síntesis, se puede decir que con ellos se pueden encapsular proteínas en un medio semejante al celular, estudiar en detalle los fenómenos superficiales de inserción de macromoléculas a membranas, los fenómenos de transporte de sustancias a través de las membranas, entre los más importantes. Un ejemplo paradigmático es el glóbulo rojo. Desde su descubrimiento como unidad funcional, los estudios abarcaron la resolución de la estructura de la hemoglobina y la explicación a través de ella de su capacidad de captar oxígeno en forma útil a seres vivos (Fernández Monroy, 2013). Por otro lado, el mismo sistema se utiliza como célula modelo para medir los fenómenos de transporte de agua (swelling ósmosis) a través de la membrana lipídica o de proteínas específicas (acuoporinas).

El aislamiento de los lípidos de las membranas de glóbulos rojos y su posterior reconstrucción mediante el autoensamblado en vesículas fue el primer intento de *biomimetización*. Es precisamente este ejercicio de análisis y síntesis a través de los componentes de membranas y de células lo que dió origen a los hoy paradigmáticos modelos de membranas biológicas, que tratan de reducir en una estructura simple los complejos fenómenos que se dan a través de una membrana celular.

En resumen, los organismos no son solo máquinas genéticas sino también sistemas abiertos. Su frontera crucial es una membrana que encierra secretos que la convierten en un sistema material único frente a todos los conocidos, ya sean sintéticos o naturales. Es permeable solo a ciertas sustancias, mantiene la complejidad interna, mantiene el medio específico para reacciones específicas. Muy probablemente, el ADN no evolucionó antes de que existieran microentornos formados por moléculas anfifílicas, es decir hasta que la química no tuviera un medio regulado de material y energía, producto del gradiente electromagnético solar o del gradiente químico del potencial redox.

Una breve lista de los sistemas biofísicos más estudiados en la actualidad se presenta en la Tabla I.

TABLA I
TEMAS DESTACADOS DE BIOFÍSICA

Estructura de proteínas y ácidos nucleicos	Cristalografía	Plegamiento y procesos de denaturalización	Organización espacial y autoensamble.	Señales ultrasensibles en células.
Estructura de membranas	Rayos x y neutrones, Infrarrojo y NMR	Espesor, polimorfismo, cambios conformacionales, transiciones de fase.	Potenciales de membrana.	Fusión de membranas
Fisicoquímica de membranas lipídicas	Bicapas y Monocapas.	Potenciales superficiales. Transiciones termotrópicas y liotrópicas	Estabilidad. Permeabilidad al agua y no electrolitos	Efectos de colesterol y ácidos grasos. Miscibilidad y diagramas de fase
Interacción lípido-proteína	Fenómenos de superficie	Inserción de péptidos.	Péptidos antimicrobianos. Lisis celular.	Enzimología. Enzimas hidrolíticas y antioxidantes (lipasas y peroxidasas)
Transportadores, receptores y canales.	Poros, canales iónicos.	Estructura y función de proteínas en membranas	Mecanismos de regulación. ATPasas.	Receptores, acetilcolina, acuoporinas, Canales de Na/K, Ca
Células animales y vegetales	Fotosíntesis y bioenergética.	Estrés hídrico y oxidativo	División celular y relaciones espaciales	Redes de células y tejidos. Máquinas moleculares
Modelización y calculo	Dinámica molecular	Modelos de membrana lipídicas	Estados y distribución de agua	Estabilización de proteínas transmembranas

Porque la Biofísica es esencial para la Biotecnología?

Los mayores esfuerzos en Biofísica, en particular en nuestro país, se han orientado a entender procesos biológicos conectados con la salud humana y sus patologías, dada la tradición en Fisiología inaugurada por Houssay y luego continuada desde el punto de vista químico por Leloir. Desde mecanismos de receptores neurológicos, acción de toxinas, hormonas, efecto de fármacos, envejecimiento, etc., la Biofísica combina todos los recursos de la física, la química y las matemáticas concentrándose mayormente en la salud humana, previniendo enfermedades y desarrollando métodos de cura y farmacoterapia. La Biofísica ha ayudado a crear vacunas poderosas contra enfermedades infecciosas, ha descrito y controlado enfermedades del metabolismo, como la diabetes y ha provisto de las herramientas y la base conceptual para el tratamiento de enfermedades como el cancer.

La Biofísica aporta tecnologías de imágenes y sonogramas para el diagnóstico.

De éste modo, la Biofísica se ha convertido en una herramienta única para aprender sobre la biología de la salud: diálisis renal, radioterapia, desfibriladores, marcapasos, bioremediación y ciencia forense.

Se ha avanzado mucho en la comprensión de la transcripción del ADN en ARN, aislar y manejar secuencias de proteínas codificadas, clonado de ovejas, etc., inaugurando lo que hoy conocemos como **biotecnología**. Instrumentos de avanzada en la investigación Biofísica se han convertido en los caballos de batalla en la industria farmacéutica y de biotecnología. Una clara indicación de su expansión es el dato que desde 1970, más de 1500 compañías en el mundo han generado empleos a casi 200000 personas y ganado no menos de \$60 billones por año.

Sin embargo, en comparación, pocos han sido los estudios enfocados utilizando otros sistemas vivos (células vegetales y bacterias) que con el mismo criterio permitan esclarecer incógnitas de la relación estructura - función como su biomimetización o simulación para fines prácticos.

Es en este punto que deseamos discutir un aspecto de la Biofísica poco explorado y explotado que apunte a la implementación de sistemas de interés práctico en la

biotecnología actual, sobre todo en la zona de influencia de la Universidad Nacional de Santiago del Estero.

La biofísica proyectada a la Biotecnología.

Tanto las metodologías para observar y manipular las estructuras de materiales biológicos como los conceptos teóricos formulados por los biofísicos no pueden limitarse a la salud humana como único beneficiario. Por el contrario, la preservación de alimentos, el estrés hídrico en plantas, la farmacología a nivel veterinario, los mecanismos de acción de pesticidas y fertilizantes, entre otros, son temas que requieren la atención de un abordaje biofísico sólido y profundo.

La microbiología es una herramienta imprescindible para hacer biotecnología en todas sus formas. Sin embargo, además de la necesaria caracterización de especies bacterianas y de los recursos de la Biología Molecular, para alcanzar un enfoque integral de la respuesta estructura y función de células aisladas no se puede prescindir de una biofísica de bacterias.

Algunos aspectos de la biofísica de bacterias ligados a procesos biotecnológicos son:

- Modificación de microorganismos para la obtención de biocombustibles reemplazando los productos de petróleo y carbón para producir electricidad (bioelectricidad) .
- Entender los ciclos de calor, luz y elementos químicos como oxígeno, carbono, nitrógeno en organismos vivos del planeta
- Modificar microorganismos para limpiar el agua y producir drogas de uso humano y animal.

Por ello, la utilización de microorganismos como reactores moleculares requieren las bases teóricas y aplicadas de la biofísicoquímica nombrados en la sesión anterior. En la denominada Biofísica de bacterias, se incluirían estudios de metabolismo, transporte en membranas, permeabilidad de iones y agua, adhesividad a superficies, entre otros

Otro de los aspectos de la Biotecnología en que se acentúa la presencia de la Biofísica es el estudio de la formación de partículas lipídicas (liposomas y vesículas, films y monocapas autoensambladas) como contenedor y soporte de principios activos farmacológicos, o como coadyuvantes de vacunas, tanto para uso humano como veterinario. A través de estos estudios se ha adquirido una nueva dimensión de los fenómenos biofísicos referido a los entornos restringidos. En este marco, ha habido enormes avances en nano partículas, confinamiento de agua en micelas inversas, las propiedades de interfases en membranas y en estructuras proteicas. En resumen, un mayor conocimiento biofísico (entendida en el marco de lo definido arriba) daría lugar a la ingeniería de sistemas (nanopartículas y sistemas biomiméticos) que sean cualitativamente distintivos por su eficiencia en el uso aplicado.

En una apretada síntesis, la Tabla II enumera algunos aspectos de la Biofísica poco desarrollados y los posibles aportes que los mismos harían a los fines biotecnológicos.

TABLA II
ASPECTOS INNOVADORES DE LA BIOFISICA Y SUS PROYECCIÓN A LA
NANOBIOTECNOLOGIAS

BIOFISICA	BIOTECNOLOGIA	Proyecciones
Biofísica del agua y sistemas acuosos	Procesos de deshidratación/rehidratación. Estrés hídrico, estrés osmótico. Sustitución de agua por productos naturales.	Problemas relativos a escasez de agua en células vegetales, animales y bacterias. Actividad de agua en alimentos. Preservación de material biológico
Biofísica de vegetales	Estudios de flujo de oxígeno, agua y sustratos en membranas celulares. Procesos fotosintéticos. Mecanismos de defensa anti-estrés hídrico.	Calidad de vegetales post cosecha. Pérdida de viabilidad celular y material celular en medios áridos. Acción de fertilizantes,

	Estrés salino.	pesticidas y sales.
Biofísica de alimentos	Reología de Hidrocoloides y Proteínas en suspensión. Denaturalización de proteínas. Estructura y propiedades del agua en matrices complejas de polisacaridos naturales. Encapsulamiento.	Estabilidad de emulsiones de interés alimentario. Uso de productos naturales
Biofísica del estrés oxidativo	Procesos antiradicalarios. Mecanismos de agentes antioxidantes. Mecanismos de acción de enzimas peroxidantes a diferentes niveles de agua	Búsqueda de productos naturales con propiedades antioxidantes.
Biofísica de nanopartículas	Nanopartículas lipídicas. Encapsulamiento de fármacos en liposomas y vesículas. Optimización del uso de coadyuvantes con materiales GRAS para vacunas.	Biomedicina Vacunas Nano medicina humana y animal.
Biofísica de sistemas complejos	Mecanismos de señales electro-químicas. Fotoquímica y Biosensores. Canales y especificidad iónica. Nanosistemas.	Semioquímica. Feromonas naturales y plagas. Percepción remota.

Biofísica y Sociedad.

La sociedad está enfrentando serios problemas a nivel global.

Cómo se resuelve la crisis de energía, cómo se puede alimentar a la población mundial, cómo remediar el calentamiento global, cómo preservar la diversidad de especies biológicas, cómo asegurar agua limpia y abundante, son solo algunas preguntas relevantes.

Si bien la concreción de medidas para solucionar estos problemas son de carácter estrictamente político, requieren una mirada científica innovadora. Es decir, que mire más allá de los esquemas establecidos que suelen ser generalmente rígidos e insuficientes. Es decir, no solo hay que vencer barreras político-económicas sino también superar paradigmas científicos.

En este contexto, la biofísica aparece como la disciplina fundamental, dado su carácter interdisciplinario, para realizar estudios integrales en donde se amplíen y generalizen principios básicos y se conozcan a nivel molecular los mecanismos biológicos.

Con esta base, creemos oportuno dirigir la atención a algunos aspectos poco desarrollados de la Biofísica a nivel internacional y mayormente a nivel nacional que son áreas de vacancias en los estudios básicos, pero que constituyen excelentes pilares para el desarrollo de sistemas, optimización de procesos y utilización de sistemas recuperables que sean aplicables con fines biotecnológicos de alto valor agregado y más aún en los criterios empleados en la formación de recursos humanos para docencia y desarrollo.

Conclusiones.

La piedra fundamental de la Biofísica en su fase microscópica fue la visión molecular de la Biología anticipada por Schrödinger y la proyección global e integradora de la Termodinámica a los sistemas abiertos.

Los dos caminos se confunden hoy en la Biotecnología.

La Biotecnología moderna comenzó hace exactamente 60 años como resultado del descubrimiento de la estructura del ADN por Watson y Crick. Hoy puede insertarse un gen humano en una bacteria, y producir insulina o algún otro compuesto con "su extraordinaria capacidad de utilizar agentes y procesos biológicos aplicados a la fabricación de medicamentos, productos para la biorremediación de residuos, o la manipulación de especies vegetales y animales para conferirles nuevas propiedades." La biotecnología juega un papel importante, por ejemplo en la producción de jarabe de maíz, o de almidones modificados, tanto para la producción de cartón como de alimentos.

Entre los últimos avances descollantes figura el desarrollo de cereales transgénicos resistentes a la sequía, que dio lugar a una patente de alcance mundial.

En la actualidad, se calcula que existen en el país unas 124 empresas que innovan o utilizan procesos biotecnológicos, y cuyos productos se exportan a 120 países. Treinta y tres integran el Foro Argentino de Biotecnología y, a fines

de 2011, se creó la Cámara Argentina de Biotecnología (CAB), que agrupa a 20, todas de capitales nacionales.

La transversalidad de la Biofísica con la Biotecnología se observa en salud humana y veterinaria, agroindustria, biocombustibles, alimentos y reactivos de diagnostic.

Según el ministro Barañao, podemos dividir la biotecnología en tres sectores: la biotecnología verde [vegetal], la roja [aplicable a la salud humana] y la biotecnología "blanca" o industrial. En paralelo, podemos identificar debajo de estas definiciones la biofísica de vegetales, del agua, de nanopartículas, de bacterias y de compuestos naturales y alimentos mencionados en la Tabla II.

Por ende, la Biofísica es una disciplina moderna y dinámica en la que se deberían poner esfuerzos para formar recursos humanos no solo para su idoneidad como Biotecnólogos sino para que como científicos avancen en un concepto de ciencia más integrador y solidario en el ámbito regional y nacional.

Referencias.

Bangham, A., Hill, M.W., and Miller, N.G.A., "Preparation and use of liposomes as models of biological membranes", in *Methods in Membrane Biology*, Vol.I., Plenum Press, New York, 1974, 1.

Bertalanffy, L. von "General Systems Theory", George Brazilier, New York. 1968

Disalvo, E. A. "Contribución de la Fisicoquímica a la Biofísica" *Actividad*, 2, 26-31, 1987.

Disalvo, E.A., Lairion, F., Martini, F., Almaleck, H., Diaz S., Gordillo, G., "Water at biological Interfaces: does it play a functional role?", *J. Argentine Chem. Soc.*, 2004, 92 (4/6) 1-22.

Disalvo, E. A. "Yo admiro a ...Willard Gibbs" *Perfil - Ciencia* – 20/5/ 2007, pp 47.

Disalvo, E. A. "La energía libre de Gibbs y el Principito de Saint Exupery"
Educación en química. ADEQRA, 2007.

Fernández Monroy, E., Linus Pauling, el verdadero científico, *Ciencia viva*, 2013

Lehninger. A. L. "Bioenergética: la base molecular de las transformaciones biológicas de energía". Fondo Educativo Interamericano, 1975.

Misteli, T., "The concept of self-organization in cellular architecture", *The Journal of Cell Biology*, 2001, 155 (2): 181-185.

Nicolis, G., and I. Prigogine. "Self-organization in Nonequilibrium Systems". John Wiley & Sons, Inc., New York. 1977.

Schrödinger, E. "What is life? : The physical aspects of the living cells", Cambridge University Press, Cambridge 1947