

# 6. Terapia Génica

C. L. RONCHERA-OMS

J. M<sup>a</sup>. GONZÁLEZ

## 1 TERAPIA GÉNICA<sup>(1,2)</sup>

En la actualidad, la dotación genética de una célula puede ser modificada mediante la introducción de un gen normal en el organismo diana que sustituya al gen defectuoso en su función; es lo que se denomina terapia génica. La terapia génica se puede definir como el conjunto de técnicas que permiten vehiculizar secuencias de ADN o de ARN al interior de células diana, con objeto de modular la expresión de determinadas proteínas que se encuentran alteradas, revirtiendo así el trastorno biológico que ello produce.

En función del tipo celular diana, existen dos modalidades de terapia génica:

1) Terapia génica de células germinales: aquella dirigida a modificar la dotación genética de las células implicadas en la formación de óvulos y espermatozoides y, por tanto, transmisible a la descendencia. Este tipo de terapia génica sería la indicada para corregir de forma definitiva las enfermedades congénitas, una vez que la técnica sea eficaz y segura, situación que no parece darse en el momento actual. La terapia génica de la línea germinal humana no ha sido practicada debido a las limitaciones de la

tecnología de manipulación de las células germinales y a considerandos éticos, en especial el peligro de la modificación del acervo genético de la especie humana, y el riesgo de potenciación genética, que derivaría en prácticas de eugenesia por selección artificial de genes que confiriesen caracteres ventajosos para el individuo.

2) Terapia génica somática: aquella dirigida a modificar la dotación genética de células no germinales, es decir, de las células somáticas o constituyentes del organismo. Por ello, la modificación genética no puede transmitirse a la descendencia. Por consenso general entre los investigadores y con la legislación actual, basada en motivos éticos y de seguridad, solamente se llevan a cabo protocolos clínicos en este tipo de terapia génica. En principio, la terapia génica somática no ha sido motivo de reservas éticas, salvo las relacionadas con su posible aplicación a la ingeniería genética de potenciación, es decir, toda manipulación genética cuyo objetivo sea potenciar algún carácter, como la altura, sin pretender tratar enfermedad alguna.

Por otra parte, y en función de la estrategia aplicada, la terapia génica también puede clasificarse en:

- 1) Terapia génica in vivo (Figura 1): agrupa la técnicas en las que el material genético se introduce directamente en las células del organismo, sin que se produzca su extracción ni manipulación in vitro. La gran ventaja de las técnicas in vivo sobre la terapia génica in vitro es su mayor sencillez. Sin embargo, tienen el inconveniente de que el grado de control sobre todo el proceso de transferencia es menor, la eficiencia global es también menor (dado que no pueden amplificarse las células transducidas) y, finalmente, es difícil conseguir un alto grado de especificidad tisular.
- 2) Terapia génica ex vivo (Figura 2): comprende todos aquellos protocolos en los que las células a tratar son extraídas del paciente, aisladas, crecidas en cultivo y sometidas al proceso de transferencia in vitro. Una vez que se han seleccionado las células que han sido efectivamente transducidas, se expanden en cultivo y se introducen de nuevo en el paciente. Sus principales ventajas son el permitir la elección del tipo de

célula a tratar, mantener un estrecho control sobre todo el proceso, y la mayor eficacia de la transducción genética. Los problemas más importantes de esta modalidad son la mayor complejidad y coste de los protocolos, así como la imposibilidad de transducir aquellos tejidos que no son susceptibles de crecer en cultivo; además, existe siempre el riesgo inherente a la manipulación de las células en cuanto a problemas de contaminación.

En las últimas dos décadas aproximadamente, los conceptos y la tecnología de la ingeniería genética aplicados a la terapéutica han pasado desde la ciencia ficción al inicio de su experimentación clínica. Esta tecnología ha evolucionado rápidamente, y en la actualidad hay más de 200 protocolos de terapia génica en fase de ensayo clínico. Por ello, si bien la terapia de fundamento genético se encuentra mayoritariamente en fase de experimentación, estas técnicas se incorporarán al arsenal

Figura 1. Modelo de transferencia génica in vivo mediado por liposomas catiónicos: introducción del gen que codifica el regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).

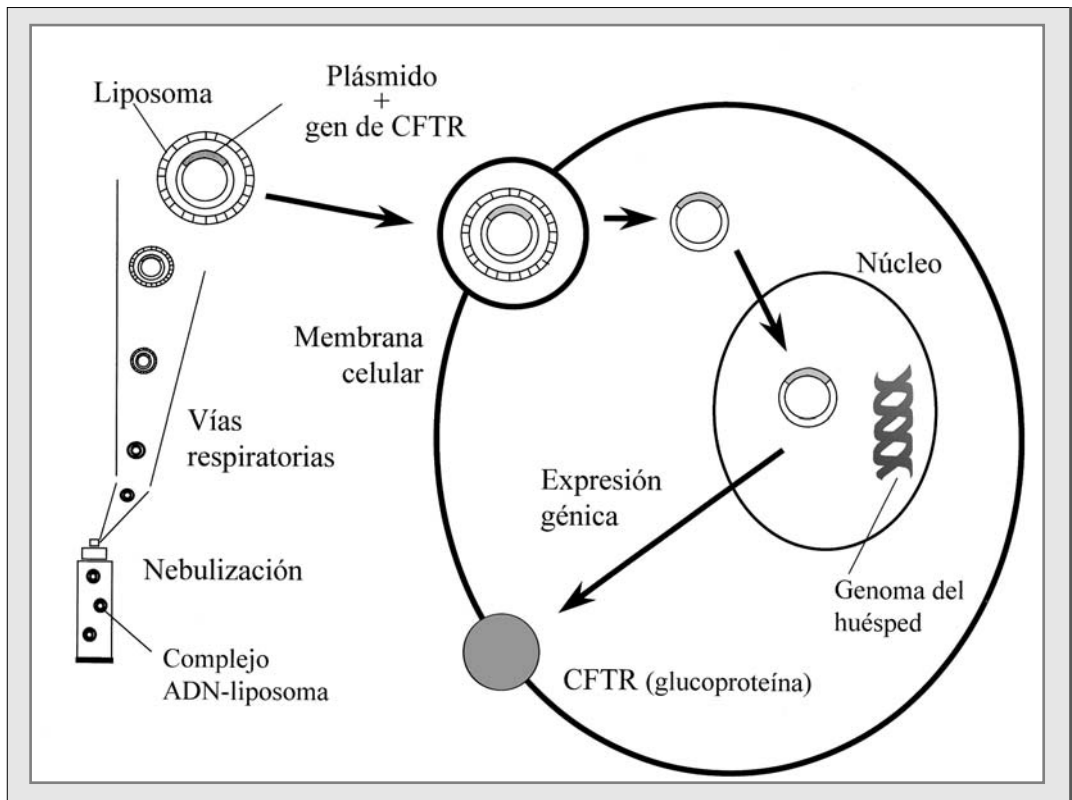
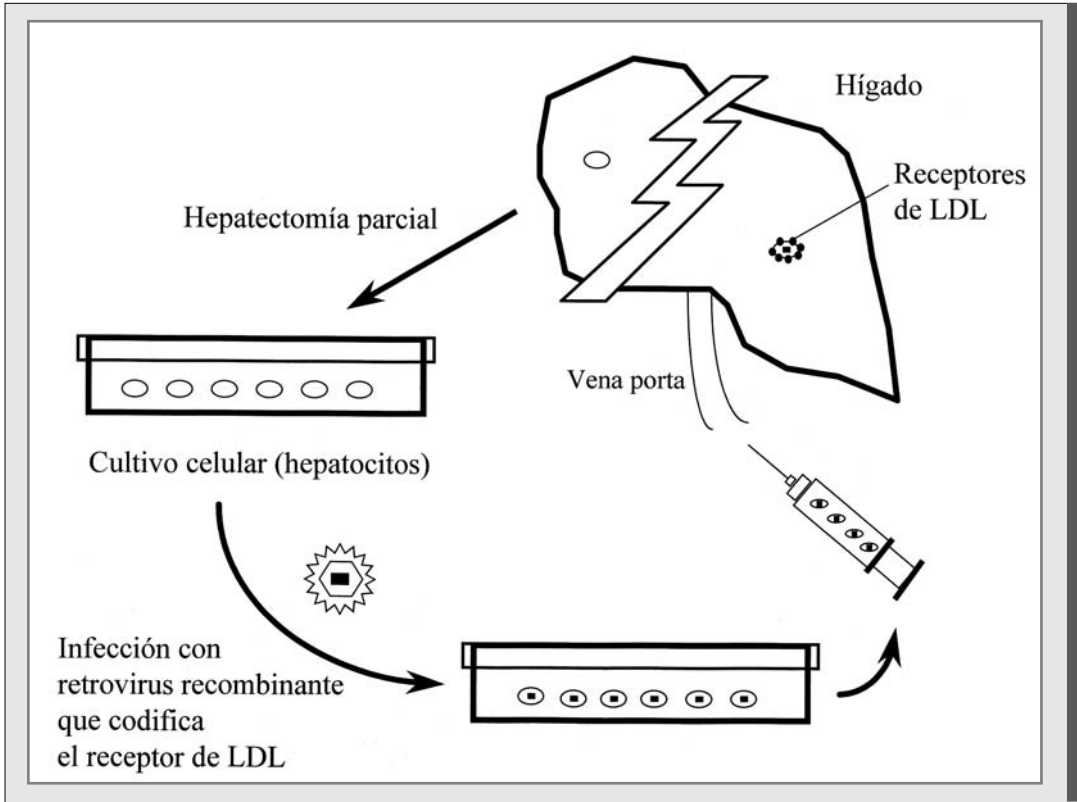


Figura 2. Modelo de transferencia génica ex vivo: introducción del gen que codifica el receptor de LDL en el tratamiento de la hipercolesterolemia familiar monogénica.



terapéutico en un futuro nada lejano para su uso clínico seguro y eficaz. El farmacéutico debe conocerlas si quiere participar de forma activa en el manejo y uso de la terapia génica, y contribuir con ello al cuidado del paciente. En este contexto, deben señalarse los dos aspectos fundamentales que previsiblemente determinarán la participación del farmacéutico en esta terapéutica:

- Las especiales características de estos medicamentos en cuanto a su obtención, estabilidad, conservación, dispensación, administración, reacciones adversas y coste. Así, en la terapia in vivo el producto podría suministrarse, como todo medicamento, en un preparado listo para su uso ya que sería idéntico para todos los pacientes que padeciesen la misma enfermedad; teóricamente, su preparación respondería a los mismos criterios que la de los medicamentos de origen biológico. La terapia ex vivo, sin embargo, requiere del manejo de las células del en-

fermo y la preparación de un producto específico, lo que podría ser abordado por un equipo multidisciplinar a nivel del propio hospital o con la participación externa de instituciones o sociedades de biotecnología.

- La previsible competitividad profesional por el manejo de estos tratamientos entre farmacéuticos, bioquímicos, inmunólogos, oncólogos y otros profesionales sanitarios.

Es probable que la formación de un equipo multidisciplinario constituya el modelo más adecuado para garantizar el uso racional de la terapia génica. El farmacéutico puede y debe participar en este grupo aportando sus conocimientos y capacidades, particularmente en lo que se refiere a formulación, estabilidad, administración de medicamentos, farmacocinética, farmacoterapia y farmacovigilancia.

## 2 TRANSFERENCIA GÉNICA<sup>(4,5)</sup>

La terapia génica requiere que se transfieran eficientemente los genes clonados a células enfermas, de manera que los genes introducidos sean expresados en cantidad adecuada. Tras la transferencia génica, los genes insertados se pueden llegar a integrar en los cromosomas de la célula, o bien quedar como elementos genéticos extracromosómicos (episomas).

### 2.1. Genes integrados en cromosomas

La ventaja de que el gen se integre en el cromosoma es que puede perpetuarse por replicación cromosómica tras la división celular. Como las células de la progenie también contienen los genes introducidos, se puede obtener una expresión estable a largo plazo. Así, en los tejidos formados por células en división activa, la clave es dirigir la modificación a las células madre (una población minoritaria de células precursoras indiferenciadas que dan lugar a las células diferenciadas maduras del tejido). Además, las células madre no sólo dan lugar a las células maduras del tejido, sino que al mismo tiempo se renuevan ellas mismas. En consecuencia, se trata de una población inmortal de células a partir de la cual deriva el resto de células del tejido. La transferencia eficiente de genes a las células madre y la posterior estable expresión del gen estable ofrece, por tanto, la posibilidad de curar un trastorno genético.

No obstante, la integración cromosómica tiene sus inconvenientes debido a que la inserción suele ocurrir casi al azar: la localización de los genes insertados puede variar enormemente entre células. En algunos casos, los genes insertados pueden no expresarse debido a su inserción en regiones muy condensadas. En algunas ocasiones, la integración puede provocar la muerte de la célula huésped (por ejemplo, por inserción en un gen crucial, inactivándolo). Este tipo de acontecimientos tiene consecuencias únicamente para la célula en la que sucede la integración. Una preocupación mayor es el riesgo de cáncer: la integración puede perturbar los patrones normales de expresión de genes que controlan la división o la proliferación celular, por ejemplo a través de la activación de un oncogén o de la inactivación de un gen supresor de tumores o de un gen implicado en la apoptosis (= muerte celular programada). La terapia génica *ex vivo* ofrece al menos la oportunidad de seleccionar las células en las que la integración ha tenido éxito, gracias a que se amplifica a estas células en cultivo y se

comprueba si sus fenotipos presentan alguna evidencia obvia de transformación neoplásica, como paso previo a su re-administración al paciente.

### 2.2. Genes no integrados

Algunos sistemas de transferencia génica están diseñados para insertar genes en células donde pueden quedar como elementos extracromosómicos (episomas) y tener una expresión elevada. Si las células están dividiéndose activamente, el gen introducido puede no segregarse igualmente a las células hijas, por lo que la expresión a largo plazo puede ser un problema. El resultado es que la posibilidad de curar un trastorno genético puede ser remota: harán falta tratamientos repetidos de terapia génica. Sin embargo, en algunos casos puede ser que no haga falta una expresión estable a largo plazo. Por ejemplo, las terapias génicas contra el cáncer suelen implicar la transferencia y expresión de genes a células cancerosas con la intención de eliminarlas. Una vez eliminado el tumor, el gen terapéutico puede no ser necesario nunca más.

### 2.3. Métodos de transferencia génica

Para alcanzar un determinado efecto biológico en terapia génica es necesario introducir de manera eficaz la secuencia génica de interés en la célula diana y conseguir su expresión. Estos objetivos suponen contar con un adecuado sistema de vehiculización o transferencia y, al mismo tiempo, disponer de promotores adecuados para conseguir la máxima expresión del gen insertado en la célula.

La introducción en una célula de material genómico foráneo se denomina transferencia génica, transducción o transfección. Los principales sistemas de transferencia pueden agruparse en dos tipos: los métodos físico-químicos y los vectores virales.

Los métodos de transferencia génica físico-químicos o no virales (Tabla 1) fueron los primeros en ser desarrollados. En estos métodos el ADN foráneo o exógeno está integrado en un plásmido, que es una molécula de ADN que puede ser mantenida de manera episómica, es decir, de forma estable e independiente del genoma de la célula huésped. En general, presentan las siguientes ventajas: son sencillos de preparar, lo que permite su producción de forma industrial; no tienen limitaciones en cuanto al tamaño del ADN que pueden transferir; son poco tóxicos; y no son inmunogénicos.

**Tabla 1. Métodos físico-químicos de transferencia génica.**

Microinyección
Precipitación con fosfato cálcico
Electroporación
Bombardeo con microproyectiles
Inyección directa de ADN "desnudo"
Conjugados ADN-proteínas
Conjugados ADN-adenovirus
Liposomas

Los inconvenientes de estos métodos son su baja eficacia de transducción de las células diana y que algunos de ellos sólo pueden utilizarse *in vitro*.

En la transferencia mediada por virus se sustituyen ciertos genes prescindibles del vector por aquellos genes que se desea introducir en las células diana. La región que ocupan estos genes se denomina región para inserción o "cassette"; su tamaño (número de kilobases: kb) depende del tamaño del virus y de los genes que puedan ser sustituidos y, obviamente, constituye un factor limitante a la hora de insertar las secuencias génicas de interés.

Actualmente, los virus (Tabla 2) constituyen la forma más eficaz de transferir genes terapéuticos al interior de las células diana, y son los vectores más utilizados en terapia génica. Los virus están constituidos por pequeños ácidos nucleicos (ADN o ARN) encapsulados en envolturas proteicas que los protegen y les permiten entrar en las células. Una vez en el interior de la célula, la información contenida en el ácido nucleico dirige la síntesis de proteínas virales, aprovechando el sistema sintetizador (ribosomas) y el aparato productor de energía (mitocondrias) de la célula huésped; de este modo se generan nuevos viriones.

**Tabla 2. Vectores virales de transferencia génica.**

Adenovirus
Virus adenoasociados
Virus vaccinia
Herpesvirus
Retrovirus

Los vectores virales se obtienen por eliminación de uno o más genes indispensables para la replicación del virus, y su sustitución por el gen terapéutico. De esta forma, el nuevo virus es defectivo, lo que significa que mantiene la capacidad de infectar las células pero es incapaz de multiplicarse en ellas. Es decir, un virus puede ser transformado estructuralmente mediante diversas técnicas, dando lugar a un vector recombinante relativamente seguro, siempre y cuando se sustituya los genes responsables de su replicación y virulencia por los genes terapéuticos, manteniendo su capacidad infectiva intacta.

Los vectores virales constituyen los sistemas más eficaces para transferir genes, ya que son capaces de infectar una elevada proporción de las células diana, es decir, poseen una elevada eficacia de transfección, que en algunos casos llega a ser incluso del 100 %. Existen, sin embargo, importantes limitaciones en el empleo de virus, derivados de la transferencia y la expresión de secuencias virales. En consecuencia, la seguridad en el empleo de los vectores virales constituye una importante preocupación, bien porque puede producirse una transferencia involuntaria del virus nativo patógeno, o bien porque pueda activarse un virus patógeno o un oncogén debido a la posibilidad de recombinación génica al insertarse un gen foráneo en el genoma del huésped. Otro punto clave a considerar en la terapia génica *in vivo* es la reacción inmunitaria que el organismo receptor pone en marcha, pudiendo eliminar el material genético a través de la muerte de las células genéticamente modificadas. Para contrarrestar esta reacción inmune se intenta eliminar el mayor número posible de genes víricos del vector, con el fin de obtener una expresión más estable del gen terapéutico.

#### 2.4. Marcaje celular

Consiste en introducir, junto con el gen terapéutico, uno o más genes que permitirán identificar y seleccionar aquellas células diana que hayan incorporado el transgén. Así, por ejemplo, el marcaje con un gen que confiere resistencia a neomicina permite la detección selectiva de las células cuando se hacen crecer en un medio que contiene dicho antibiótico.

Por otra parte, un riesgo potencial de la terapia génica es la posibilidad de aparición de complicaciones que requirieran la suspensión del tratamiento. Es por ello que se ha desarrollado una alternativa consistente en el doble

marcaje de la célula con genes distintos de la secuencia de interés, es decir, la célula marcada lleva un gen foráneo que nos sirve de marcador, como el de resistencia a neomicina, que permite seleccionar *in vitro* las células que han tomado el ADN exógeno o conocer *in vivo* el grado de transfección, y el otro gen, como el de la enzima timidina cinasa del virus del herpes simplex, que permite hacer una selección negativa *in vivo* de las células marcadas, mediante la administración de ganciclovir, el cual es fosforilado por la enzima y activado, provocando la muerte celular; de este modo se eliminan las células modificadas si la situación lo requiere debido a la toxicidad del tratamiento u otras complicaciones.

### 3 TERAPIA ANTISENTIDO<sup>(3)</sup>

El término antisentido se aplica a secuencias cortas de ADN o ARN (oligonucleótidos) diseñadas para ser complementarias de secuencias génicas específicas, con el fin de interferir el flujo de información genética.

Los agentes terapéuticos antisentido inhiben la síntesis proteica al interferir los procesos de transcripción y/o traducción. Existen tres clases principales:

- Secuencias antisentido: derivan de ácidos nucleicos que se unen (hibridan) con hebras de ARNm citosólicas (hebras con sentido: portadoras de la información necesaria para la síntesis de proteínas en los ribosomas) o de ARNhn (precursor nuclear del ARNm), a través de puentes de hidrógeno, por complementariedad de las bases correspondientes del ácido nucleico. Normalmente, las secuencias antisentido son secuencias cortas de ácido nucleico, por lo que habitualmente se les denomina oligonucleótidos antisentido.
- Secuencias antigén: de forma similar a las secuencias antisentido, las secuencias antigén se hibridan al ADN de doble hebra localizado en el núcleo, creando secuencias en triple hélice que bloquean la transcripción del gen correspondiente, bien directamente o bien interfiriendo en la unión de proteínas a secuencias específicas del ADN.
- Ribozimas: los ARN antisentido pueden catalizar enzimáticamente la hidrólisis de secuencias específicas de ARNm. Estos ARN catalíticos se denominan ribozimas, y actúan sobre sustratos naturales concretos, pero en el caso de la terapia antisentido se diseñan de forma que combinen dicha actividad catalítica con la posibilidad, aportada por el apareamiento

de bases, de reconocer específicamente diversas secuencias de ARN diana.

En general, pueden seguirse dos enfoques en terapia antisentido: 1) la administración directa de oligonucleótidos; y 2) la expresión de los oligonucleótidos tras la transfección de determinadas células. En el primer caso, además de la microinyección directa, se han investigado diversos métodos de liberación *in vitro* como son la formación de complejos con lípidos cargados positivamente, la incorporación en el interior de liposomas y la electroporación. En cuanto a la expresión de nucleótidos, se han utilizado vectores como adenovirus o retrovirus; en tal caso, el vector es administrado al paciente, cuyas células serán las encargadas de generar el oligonucleótido antisentido.

La expresión de oligonucleótidos presenta ciertas ventajas y desventajas con respecto a la administración directa de los mismos: 1) la producción directa a nivel nuclear permite mecanismos adicionales, ya que el oligonucleótido puede interferir en el transporte del ARNm al citoplasma, puede también inducir una actividad nuclear del tipo ribonucleasa H, y puede interferir en el proceso de transcripción de la hebra de ADN complementaria; y 2) los ARN antisentido expresados son de mayor longitud, lo que ofrece más posibilidades de interacción con el ARNm diana, aunque esto también puede favorecer la formación de interacciones no específicas y facilitar la formación de estructuras secundarias que interfieran en el proceso de hibridación.

### 4 TERAPIA GÉNICA DE LAS ENFERMEDADES MONOGÉNICAS<sup>(4,5)</sup>

La terapia génica fue inicialmente concebida como una forma de tratamiento de enfermedades genéticas causadas por mutación de un sólo gen (monogénicas), de las que se conocen aproximadamente 4.000. Las enfermedades hereditarias comprenden trastornos de muy diversa índole, en los que un gen defectuoso determina que no se sintetice una proteína específica, o bien que se elabore una proteína anormal. En ambos casos, la ausencia de la proteína normal puede ocasionar muy diversas manifestaciones clínicas, según la función estructural o enzimática que normalmente ejerce dicha proteína en las células. Así, los cuadros varían desde leves, que no necesitan tratamiento (como el daltonismo), hasta enfermedades graves (como la fibrosis quística y la

hemofilia). En términos generales se trata de enfermedades en las que la farmacoterapia convencional resulta poco eficaz. Sólo para algunos de estos trastornos se han desarrollado y aplicado tratamientos basados en la restitución de la proteína defectuosa o deficitaria (como sería el factor VIII en el caso de la hemofilia A, o la enzima adenosina desaminasa en el síndrome de inmunodeficiencia combinada grave); pero además, dichos tratamientos sólo tienen una efectividad parcial para paliar las manifestaciones de la enfermedad y pueden conllevar graves complicaciones. En pocas enfermedades de origen genético es pues factible suministrar la proteína deficitaria en una forma farmacéutica efectiva, dada su naturaleza lábil y compleja, y la necesidad de hacerla llegar a un dominio subcelular específico. En ciertos casos se recurre a transplantar el órgano afectado, pero esta técnica también tiene graves limitaciones: la disponibilidad de órganos y las consecuencias adversas que se derivan de la inmunosupresión requerida para evitar el rechazo del nuevo tejido.

El problema podría resolverse si se suministrara una copia normal del gen defectuoso a los tejidos afectados; así la proteína podría ser sintetizada dentro de las células utilizando las vías celulares habituales. Es importante señalar que el gen defectuoso está en todas las células de la persona afectada por el trastorno hereditario, pero su expresión en los diferentes órganos y tejidos es variable. Los defectos en genes que se expresan en todas las células del organismo suelen causar anomalías tan graves que no son compatibles con el desarrollo embrionario. No obstante, el limitado número de tejidos afectados en casi todos los trastornos hereditarios simplifica las exigencias de la terapia génica, puesto que se necesita introducir una copia funcional del gen sólo en aquellos tejidos que realmente lo requieren. Si puede mantenerse la adecuada expresión del gen durante un periodo de tiempo prolongado, entonces la enfermedad puede ser curada, o cuanto menos, paliada. El tratamiento definitivo de una enfermedad genética sólo es posible mediante la corrección del defecto genético del gen mutado. La terapia génica permite la introducción en el organismo del gen normal, el cual debe corregir la alteración genética del organismo receptor.

Los criterios para seleccionar una enfermedad humana como candidata al tratamiento mediante terapia génica son:

- La enfermedad ha de amenazar gravemente la vida del paciente.
- Los órganos, tejidos y tipos celulares afectados por la enfermedad han de estar bien caracterizados.
- La versión normal del gen defectuoso debe haber sido aislada y clonada.
- El gen normal ha de poder ser introducido en una fracción significativa de células del tejido afectado, o bien la introducción del gen en un tejido accesible, como la médula ósea, puede beneficiar indirectamente el curso de la enfermedad en el tejido afectado.
- El gen debe poderse expresar adecuadamente, generando una cantidad suficiente de proteína normal.

En la Tabla 3 se enumeran las enfermedades monogénicas en las que se están experimentando diversos protocolos de terapia génica; sólo en algunas de ellas se dispone ya de suficientes datos y de experiencia contrastada en humanos, ya que en muchos casos los estudios todavía se encuentran en fase preclínica o de experimentación animal.

## 5 TERAPIA GÉNICA DEL CÁNCER<sup>(6-9)</sup>

En la actualidad se considera que las alteraciones genéticas desempeñan un papel esencial en la patogénesis del cáncer. Por una parte, los oncogenes son genes que pueden producir transformación maligna cuando se expresan de forma inadecuada debido a mutación, a ampliación, o a nueva disposición. Los protooncogenes son los genes normales que desempeñan un importante papel en la proliferación y diferenciación celular normales, pero que son susceptibles de ser mutados y convertirse en oncogenes, provocando la aparición de cáncer. En la mayor parte de los casos codifican factores de crecimiento, receptores, u otras moléculas implicadas en las vías de transducción de la señal, o factores de transcripción que regulan la expresión génica. El número de protooncogenes identificados hasta ahora sobrepasa los 50, y se cree que podría alcanzar los 100.

Por otra parte, los antioncogenes o genes supresores de tumores actúan inhibiendo el crecimiento celular, y una categoría relacionada de genes están implicados en la génesis tumoral cuando se pierden o se inactivan. El número de genes supresores de tumores identificados y clonados molecularmente hasta ahora es pequeño, alrededor de diez; no obstante, se espera un incremento sustancial en los próximos años. Los más conocidos son: Rb, p53, FAP, DCC, NF1, NF2, WT1 y p16.

Tabla 3. Enfermedades monogénicas en las que se aplican protocolos clínicos de terapia génica.

Enfermedad	Gen alterado
Inmunodeficiencia combinada grave	Adenosina desaminasa
Enfisema	$\alpha$ 1-antitripsina
Citrulinemia	Arginosuccinato sintetasa
Deficiencia de adhesión leucocitaria	CD 18
Fibrosis quística	CFTR
Hemofilia A	Factor VIII
Hemofilia B	Factor IX
Talasemia	$\beta$ -globina
Anemia falciforme	$\beta$ -globina
Enfermedad de Gaucher	glucocerebrosidasa
Mucopolisacaridosis tipo I	$\alpha$ -L-iduronidasa
Mucopolisacaridosis tipo IV	$\beta$ -glucuronidasa
Enfermedad de Niemann-Pick	Esfingomielinasa
Fucosidosis	$\alpha$ -L-fucosidasa
Hipercolesterolemia familiar	Receptor LDL
Hiperamoniemia	Ornitina transcarbamilasa
Fenilcetonuria	Fenilalanina hidroxilasa
Distrofia muscular de Duchenne	Distrofina

### 5.1. Estrategias en terapia génica del cáncer

En el cáncer, no se trata de corregir un defecto genético como ocurre en las enfermedades monogénicas, sino de utilizar la manipulación génica para dotar de una nueva propiedad a las células, que permite aprovecharlas en algún aspecto de la patología oncológica con fines terapéuticos.

En la actualidad, se han desarrollado distintas estrategias en terapia génica del cáncer, y se están realizando diversos ensayos clínicos para tratar diferentes tipos de cáncer: de mama, ovario, cabeza y cuello, pulmón, próstata, células renales, tumor cerebral, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, linfomas, melanoma, mieloma múltiple y neuroblastoma.

A continuación se enumeran las diferentes estrategias aplicadas en los ensayos clínicos realizados en terapia génica del cáncer:

- Aumentar la actividad antitumoral de células inmunes por medio de citoquinas (interleucinas, factores de necrosis tumoral, factores estimulantes de colonias o interferones).

- Aumentar la inmunogenicidad del tumor introduciendo antígenos foráneos (“vacunas tumorales”).
- Introducir un gen “suicida” o de sensibilidad aumentada a determinados fármacos. Se transduce el gen de una enzima (timidina cinasa) que activa selectivamente un profármaco (aciclovir).
- Bloquear la expresión de oncogenes mediante terapia antisentido.
- Introducir genes supresores de tumores (p53).
- Eliminación de las células tumorales mediante adenovirus oncolíticos.
- Transferencia de genes con efecto antiangiogénico, para inhibir la formación de vasos sanguíneos inducidos por el propio tumor.
- Introducir genes de resistencia a fármacos para reducir la toxicidad de la quimioterapia, particularmente sobre la médula ósea.

### 6 TERAPIA GÉNICA DE LA INFECCIÓN POR VIH<sup>(10)</sup>

Actualmente, la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) se considera una enfermedad

genética de carácter adquirido, ya que el virus retrotranscribe su ARN genómico e integra el ADN de doble hélice resultante en el cromosoma de la célula huésped, de modo que es capaz de modular las funciones de la célula para, finalmente, suprimir el sistema inmune. Por ello, el SIDA es en la actualidad un claro objetivo de la terapia génica. Se han realizado ya numerosos estudios sobre el tratamiento de la infección por el VIH mediante terapia génica, tanto in vitro en diferentes líneas celulares como in vivo en animales de experimentación. Asimismo, en la actualidad se están ensayando diversos protocolos clínicos de terapia génica para el tratamiento del SIDA. Los ensayos clínicos en desarrollo utilizan mayoritariamente técnicas ex vivo. Se aíslan células del paciente, las cuales se utilizan como vehículos celulares de los genes terapéuticos. Mediante vectores víricos o por inyección directa de ADN, se introduce un gen terapéutico en estas células diana. A continuación, las células transducidas, es decir, aquellas que han incorporado y expresado el transgén, son reintroducidas en el paciente por vía intravenosa. En algunos protocolos, las células transducidas, previamente a su administración al paciente, son expandidas en un cultivo celular para aumentar su número.

A continuación se enumeran las diferentes estrategias aplicadas en los ensayos clínicos realizados en terapia génica de la infección por VIH:

- Transferir un gen del virus VIH, para así estimular la respuesta inmune del paciente en cuanto dicho gen sea expresado.
- Introducir genes de inhibidores celulares de la replicación vírica (interferón- $\alpha$ ) en líneas celulares de linfocitos T y monocitos, y con la subsiguiente inhibición de la producción de VIH.
- Transferir genes de proteínas mutantes del VIH, las cuales compiten con las proteínas víricas nativas, dificultando el ensamblaje del virus o inhibiendo su replicación.
- Secuestrar proteínas víricas reguladoras mediante señuelos de ARN, sobreexpresados en la célula a partir de genes transferidos, los cuales impiden la unión de estas proteínas a sus verdaderos puntos de acción.
- Oligonucleótidos antisentido, que son hebras cortas de ARN químicamente modificado y no funcional, complementarias de las secuencias genéticas del VIH. La formación de parejas (“duplex”) sentido:antisentido bloquea la traducción y promueve la degradación de los complejos de ARN inestables.
- Manejo de ribozimas, que son ARN con propiedades catalíticas. Al igual que los ARN antisentido, los ribozimas se unen a secuencias complementarias del ARN diana, con la propiedad adicional de su actividad enzimática ribonucleasa, que rompe catalíticamente el ARN sustrato. Esto les exime de las limitaciones estequiométricas que afectan a los ARN antisentido. Además, no parecen inducir respuesta inmunológica. En el caso de los virus ARN, los ribozimas resultan particularmente interesantes, ya que pueden degradar al ARN genómico vírico antes de su integración, así como a los ARN mensajeros y al ARN genómico destinado al ensamblaje y la generación de nuevos viriones.
- Introducción en las células diana de genes que codifican anticuerpos de cadena única frente a proteínas del VIH, de manera que la expresión de tales anticuerpos neutraliza las proteínas víricas dentro de las células infectadas, incluso antes de que se produzca el ensamblaje del virus, tratándose pues de una verdadera “inmunización intracelular”.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Lazo PA. Terapia génica humana: tendencias y problemas. *Med Clén (Barc)* 1996; 106:469-476.
2. Novelli G, Gruenert DC. Genome medicine: gene therapy for the millennium. *Pharmacogenomics* 2002; 3:15-18.
3. Putnam DA. Antisense strategies and therapeutic applications. *Am J Health-Syst Pharm* 1996; 53:151-160.
4. Noell DL, Yiu IM. Human gene therapy for hereditary diseases: a review of trials. *Am J Health Syst Pharm* 1998; 55:899-904.
5. Walsh CE. Gene therapy for the hemophilias. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14:12-16.
6. Escrig E, Aliño SF. Terapia génica del cáncer. *Farm Clin* 1997; 14:259-269.
7. Curiel DT, Gernitsen WR, Krul MR. Progress in cancer gene therapy. *Cancer Gene Ther.* 2000; 7:1197-1199.
8. Banerjee D, Bertino JR. Myeloprotection with drug-resistance genes. *Lancet Oncol* 2002; 3:154-158.
9. Wadhwa PD, Zielske SP, Roth JC y Cols. Cancer gene therapy: scientific basis. *Annu Rev Med* 2002; 53: 437-452.
10. Statham S, Morgan RA. Gene therapy clinical trials for HIV. *Curr Opin Mol Ther.* 1999; 1: 430-436.