

APLICACIONES DE TERAPIA GENICA EN GENETICA MEDICA

SUSANA TURYSK

Sección Genética Médica, Hospital Británico, Buenos Aires

Resumen Durante las últimas tres décadas una proporción creciente de investigación genética está dedicada a estudios moleculares en medicina. Esto produjo importantes cambios en el entendimiento de la fisiopatología de diversas enfermedades genéticas. Aunque muchos descubrimientos fueron aplicados a las técnicas diagnósticas, la utilización de técnicas moleculares en el tratamiento de enfermedades genéticas es lógico y natural. Terapia génica consiste en la utilización de ácidos nucleicos con fines terapéuticos. Aunque esta técnica es muy joven, ya que el primer paciente tratado fue en 1990, presenta un futuro muy prometedor. En los primeros 9 años, 396 protocolos clínicos, en más de 3 000 pacientes de 22 países fueron ensayados. La conclusión de estos ensayos es que la terapia génica es una técnica potencialmente útil para el tratamiento de diferentes enfermedades y presenta un riesgo de reacciones adversas bajo, pero la eficacia de transferencia génica y su expresión en los pacientes es baja. Ningún estudio formal de la fase III para establecer la eficacia clínica del procedimiento se ha completado. La terapia génica es una técnica potencialmente poderosa, pero está restringida por el conocimiento limitado de los vectores y la fisiopatología de las enfermedades a tratar. Un mayor conocimiento del proceso de las enfermedades genéticas, mejoras en el diseño de los vectores y gran atención a las aplicaciones de los aspectos farmacológicos, van a permitir un eficaz y muy esperado desarrollo de la terapia génica.

Abstract: *Gene therapy in medical genetics.* Over the past three decades, an increasing proportion of genetic research has consisted of molecular studies in medicine. It has resulted in a profound change in the understanding of the pathophysiology of diverse genetic diseases. Gene therapy is the use of nucleic acids as therapeutically useful molecules. Although many genetic discoveries have resulted in better diagnostic tests, the application of molecular technologies to the treatment of genetic diseases is natural and logical. Gene therapy is in a phase of its youth, nevertheless it holds very real promise. In the first 9 years, 396 clinical protocols have been approved worldwide and over 3 000 patients from 22 different countries have carried genetically engineered cells in their body. The conclusion from these trials are that gene therapy has the potential for treating a broad array of human diseases and the procedure appears to carry a very low risk of adverse reactions, but the efficiency of gene transfer and expression in human patients is low. No formal phase III studies to establish clinical efficacy have been completed. Gene therapy is potentially a powerful clinical approach, but it has been restricted by the limited knowledge of vectors and pathophysiology of the diseases to be treated. Better understanding of the disease processes, improvements in vector design, and a great attention to the pharmacological aspects should permit the development of more effective gene therapy.

Key words: gene therapy, vector, monogenic disease

A lo largo de la Historia de la Medicina se produjeron tres grandes revoluciones en el control de las enfermedades¹. La primera ocurrió cuando la sociedad comenzó a establecer normas sanitarias para luchar contra las infecciones. La segunda gran etapa fue el descubrimiento de la anestesia. Gracias a este descubrimiento la cirugía realizó gran avance. La tercer gran etapa fue la introducción de vacunas y antibióticos. Creo que ahora estamos frente a una nueva revolución: la de terapia génica. Podríamos definir a la terapia génica, como una técnica que utiliza al ácido nucleico como molécula

terapéuticamente útil². Potencialmente tiene muchas aplicaciones, la más esperada en genética médica es la corrección de alteraciones monogénicas de las enfermedades hereditarias. Existen muchas otras posibles aplicaciones³.

Es digno de mencionar, que el mayor problema en el inicio de todas las nuevas técnicas es su desmesurado simplismo, lo que en algunos casos las hace menos realistas. Por lo tanto, terapia génica, como toda buena técnica por definición, debe demostrar que es útil. Debe sobrevivir a los sobresaltos del mercado, de las condiciones sociales y económicas de las políticas gubernamentales, de una deficiente temporización, de los caprichos de la moda y de todas las inconsistencias de la naturaleza humana. Pero, sobre todas las cosas debe tener un marco ético y moral de índole personal y social.

Las aplicaciones de terapia génica en genética médica son complejas y ese hecho se debe fundamentalmente a dos causas. La primera se debe a las características de la especialidad misma. Los cuadros que estudiamos en genética médica son muy heterogéneos y de expresión temprana en la mayoría de los casos. La patología genética podemos dividirla en tres grandes grupos. El primero es de enfermedades cromosómicas. La base del trastorno es un defecto en el número o estructura de los cromosomas. En conjunto estas alteraciones afectan a 7 de cada 1 000 nacimientos. A medida que aumenta la edad materna y paterna aumenta el riesgo de tener un niño con este tipo de enfermedades. Las enfermedades monogénicas están causadas por genes mutados con diferentes patrones de herencia. El número de estas enfermedades es de alrededor de 5 000 cuadros descritos. Las enfermedades multifactoriales son el resultado de factores genéticos y ambientales. En la mayoría de los casos se expresan con malformaciones congénitas. La frecuencia de las malformaciones congénitas en los recién nacidos es de 2-3%.

La segunda, es que la terapia génica es una técnica nueva. Recién el 14 de septiembre de 1990 Ashanti Desilva, una niña de 4 años de edad, fue la primera paciente que recibió el tratamiento⁴. La paciente tenía una deficiencia combinada grave (SCID), caracterizada por una deficiencia de adenosina deaminasa. El equipo que efectuó el tratamiento fue integrado por los doctores RM Blaese, KW Culver, WF Anderson y otros. La técnica de introducción de genes que se aplicó en Ashanti, es la que más se utiliza: la terapia *ex vivo*.

La terapia *ex vivo* se caracteriza por la extracción al paciente de células con genes alterados e incorporación de copias normales, las que son retornadas al organismo. Se suelen utilizar células sanguíneas. El problema es que las células corregidas tienen vida limitada, desapareciendo poco a poco, por lo cual se deben realizar tratamientos periódicos. Otra posibilidad es actuar sobre las células precursoras.

El segundo método de terapia génica en células somáticas es el tratamiento *in situ*. Implica la introducción de genes correctores directamente en el tejido donde está localizado el problema. Es ideal para la corrección de un defecto localizado. No puede corregir problemas generalizados. El tratamiento *in situ* se aplica actualmente en varias enfermedades. Una de las frecuentes aplicaciones es en la enfermedad fibroquística del páncreas, en forma de aerosoles sobre la mucosa nasal y bronquial. La terapia *in situ* tiene aún el inconveniente de la falta de vías seguras y eficaces para la implantación de genes correctores en ciertos órganos. No siempre producen cantidades suficientes de proteínas, y la vida de las células portadoras de genes útiles es limitada. Finalmente, en los dos tipos de terapias debemos vigilar que el hecho de incorporación de los genes co-

rectores dentro de la célula y su integración al azar con el ADN de los cromosomas no cause delección de los genes supresores de tumores.

La esperanza estaría en la terapia *in vivo*. Implica inyección de vectores con los genes correctores en la sangre. Una vez dentro del cuerpo, los vectores se encontrarían con sus células dianas para transferir su información genética.

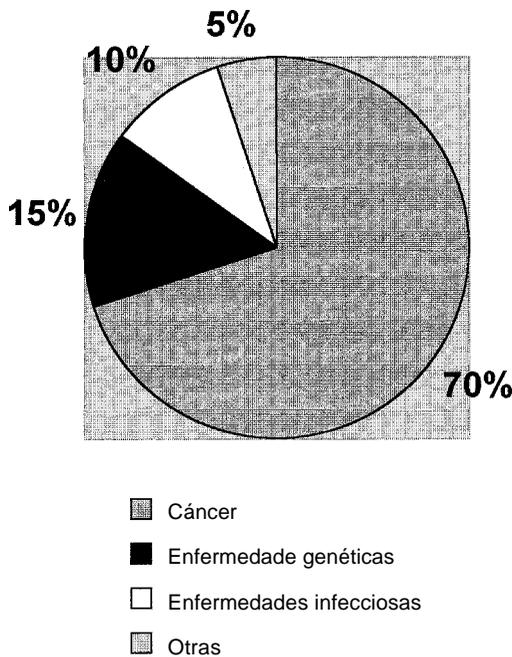
Vector es el vehículo que se utiliza para introducir genes dentro de las células afectadas. Pueden ser virales o no virales. Los vectores virales son los más utilizados. Los retrovirus se consideraron desde el principio muy prometedores. De hecho, el 60% de todos los protocolos clínicos utilizan retrovirus como vector. Otros virus, como los adenovirus, adenovirus asociados y lentivirus fueron utilizados también como vectores⁵. De los vectores no virales se utilizan liposomas y el "naked DNA".

La selección de los vectores está íntimamente ligada a las características de cada enfermedad en particular. El continuo aumento del conocimiento de los procesos fisiopatológicos de las enfermedades promueve la capacidad de los vectores en identificar las células afectadas. Para muchas aplicaciones de la terapia génica, las células a las cuales debemos introducir el gen son po-

TABLA 1.— Distribución de ensayos clínicos y pacientes según países (US Recombinant ADN Advisory Committee)

País	Protocolos		Pacientes	
	n	%	n	%
Australia	2	0.51	11	0.34
Austria	2	0.51	15	0.46
Canadá	11	2.78	120	3.66
China	2	0.51	4	0.12
Egipto	1	0.25	15	0.46
Finlandia	3	0.76	33	1.01
Francia	14	3.54	97	2.96
Alemania	8	2.02	67	2.04
Israel	1	0.25	0	0
Italia	7	1.77	45	1.37
Japón	3	0.78	5	0.15
Corea	1	0.25	9	0.27
Holanda	5	1.26	82	2.50
Nueva Zelanda	1	0.25	2	0.06
Polonia	1	0.25	30	0.92
Singapur	2	0.51	19	0.58
España	1	0.25	19	0.58
Suecia	2	0.51	6	0.18
Suiza	7	1.77	34	1.04
Reino Unido	18	4.55	111	3.39
Multi países	5	1.26	301	9.18
Estados Unidos	299	75.51	2 263	69.04
Total	396	100.00	3 278	100.00

TABLA 2.- Resumen de protocolos clínicos según el tipo de patología



brevemente caracterizadas o simplemente desconocidas. Los factores, como la eficacia de la transferencia génica, la duración de la expresión, posibles reacciones inmunológicas, la seguridad y la respuesta clínica en cada cuadro en especial van a orientar qué tipo de vector se debe utilizar⁶.

A la fecha fueron ensayados 396 protocolos clínicos en 22 diferentes países. Alrededor de 70% de ellos están dirigidos hacia los cánceres, 15% hacia las enfermedades genéticas, 10% aplicados a las enfermedades infecciosas y 5% a otras patologías. (Tablas 1 y 2). De los ensayos clínicos desarrollados hacia el tratamiento de los cánceres, la mayoría son dirigidos a melanoma, cánceres de riñón, ovario, cerebro, pulmón, hígado, mama, colon, próstata, neuroblastoma, mesotelioma, leucemia, linfoma, mieloma múltiple y otros.

Las enfermedades monogénicas hacia las cuales están dirigidos la mayoría de los ensayos son: inmunodeficiencia combinada severa, enfermedad fibroquística del páncreas, hipercolesterolemia familiar, hemofilia B (deficiencia del factor IX), enfermedad granulomatosa crónica, epidermolisis bullosa, xeroderma pigmentoso, enfermedad de Gaucher y otras^{5,7,8}. Los protocolos de los ensayos clínicos de aplicación de terapia génica en las enfermedades genéticas cursan por las Fases I/II. Aunque la terapia génica es una técnica potencialmente poderosa, su introducción en Genética Médica es lenta, en parte porque nuestra comprensión de la biología de las enfermedades genéticas es limitada. El Proyecto Genoma Humano va a aportar datos importantes para aclarar muchos puntos al respecto.

Ninguna reflexión sobre terapia génica está completa si no enfocamos el tema ético. El tratamiento con esta técnica dirigido a las células somáticas es ahora éticamente aceptado. Nuestra sociedad cayó ciegamente en la era de la energía nuclear y de los plaguicidas. No debemos permitirnos entrar a ciegas en la era de terapia génica. Debemos enfocar esta excitante nueva era en la medicina con la conciencia que debe ser usada para corregir enfermedades y no buscar el "perfeccionamiento" del individuo normal.

Bibliografía

1. Rennie J. Las incertidumbres de la innovación técnica. *Investigación y Ciencia*, noviembre 1995.
2. Smith AE. Gene therapy, Where are we? *Lancet* 1999; 354 (Suppl 1) 1-4.
3. Pasqualini CD. Terapia génica. *Medicina (Buenos Aires)* 1995, 55: 600-8.
4. Friedman T. Overcoming the obstacles to gene therapy. *Scientific American* June 1997.
5. French Anderson W. Human gene therapy. *Nature* 1998, 392 (Suppl): 25-30.
6. Flotte T. Genetic therapy. Past, present and future. *Ped Clin NA* 1997; 44: 1-5.
7. van Ommen GLB, Bakker E, den Dunnen JT. The human genome project and the future of diagnostics, treatment and prevention. *Lancet* 1999, 354 (Suppl): 5-10.
8. Khavari A. Gene therapy for genetic skin disease. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 462-7.