

TRABAJO DE FIN DE GRADO

# TERAPIA GÉNICA: PRESENTE Y FUTURO.

## INTRODUCCIÓN

La TG puede definirse como la transferencia de material genético a células para conseguir un efecto terapéutico.

La evolución de la terapia génica se relaciona con el desarrollo de la tecnología del ADN recombinante, así como los diferentes descubrimientos sobre su estructura. En 1990 se realizó con éxito el primer ensayo clínico de terapia génica, en una niña de 4 años con inmunodeficiencia combinada severa.

Las técnicas utilizadas en TG son restablecer la funcionalidad de un gen defectuoso, la supresión génica, introducción de secuencias que codifiquen proteínas mutantes, introducción de un gen suicida...

## OBJETIVOS

Conocer la situación actual de la TG, analizando los métodos y vectores empleados, las enfermedades en las que se han llevado a cabo avances y las implicaciones éticas que conlleva. Así como, valorar cual es el potencial y las expectativas de futuro para esta novedosa rama terapéutica.

Este trabajo ha sido realizado conjuntamente por dos autoras. Se ha dividido el tema en 2 grandes bloques: vectores, estrategias y ética y un segundo bloque de enfermedades, desarrollando cada una de las alumnas uno de dichos bloques. Posteriormente se ha llevado a cabo un trabajo en común para unificar e integrar las diferentes partes.

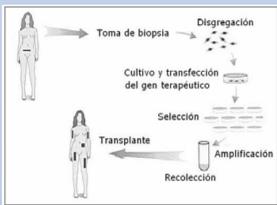
Para realizar este trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica en distintas bases de datos (pubmed, BUCea) utilizando palabras clave como: Terapia génica, Terapia celular, Ética en avances genéticos, Avances en tratamientos de enfermedades genéticas. De todos los artículos encontrados, hemos realizado una primera selección de los 50 con mayor relevancia para nuestro trabajo. Posteriormente, en una segunda selección, hemos elegido los 30 artículos más interesantes y completos para llevar a cabo nuestros objetivos. En la bibliografía únicamente incluimos los 14 artículos que citamos a lo largo del trabajo. Ésta información la hemos completado con la obtenida a partir de libros publicados sobre el tema.

## MATERIAL Y MÉTODOS

## RESULTADOS

### ESTRATEGIAS

#### TG *ex vivo*



#### TG *in vivo*



### VECTORES

#### VIRALES

Son virus modificados para que sin perder su capacidad infectiva no produzcan patología.

VECTOR	DIANAS CELULARES	CAPACIDAD CLONACIÓN	DEVENTAJAS	DESVENTAJAS
Adenovirus	Pulmon, tracto respiratorio	7.5 kb	Transfección (introducción de material genético externo en células eucariotas) eficiente, y fácil producción en laboratorio.	Fuerte respuesta inmunitaria y dificultad para repetir la inyección.
Virus adenoasociado	Fibroblastos, células T, otras	4.5 kb	Transfecta muchos tipos celulares, expresión a largo plazo y no hay respuesta inmunitaria.	Pequeño tamaño inserto y dificultad para obtener grandes cantidades.
Retrovirus	Células en proliferación	8 kb	Expresión prolongada, alta eficacia de transducción, tamaño del inserto grande, las proteínas del vector no se expresan en el huésped y sistema muy bien estudiado.	Baja eficiencia de transformación, necesita células en división e integración al azar en el genoma.
Lentivirus	Células madre, células en proliferación	8 kb	Transfección eficiente	Relacionado al VIH

#### NO VIRALES

Son vectores sintéticos que se han desarrollado como una alternativa para superar muchos de los problemas de seguridad asociados a los sectores virales.

#### Liposomas

Transferencia directa de ácidos nucleicos

#### Cromosomas artificiales

Complejo asialoglicoproteína-polilisina

## TG EN DIFERENTES PATOLOGÍAS

### Inmunodeficiencia combinada severa

Transferencia génica de ADA a linfocitos T, junto con la administración de quimioterapia para eliminar precursores no tratados. Procedimiento *in vitro*, 70% de beneficio clínico. Efectos adversos: leucemia debido a RT, por lo que se sustituyó por RT autoinactivados.

### Hipercolesterolemia Familiar

Corrección de los niveles de colesterol, modificando el ADN de LDLR dándole resistencia frente a los mecanismos de degradación.  
• Vector adenoasociado + hPCSK9 o hIDOL.

### Distrofia muscular de Duchenne

Reemplazar distrofina en el musculo esquelético.  
• Vector AAV + distrofina (requiere altas dosis).



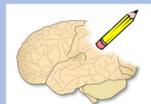
### Hemofilia

Transferencia del gen productor de F.VIII o F.IX



**H. B:** déficit de F. IX  
• AAV dirigido al hígado. Problemas: baja expresión y daño hepático.  
• scAAV8 + Prednisolona (inhibe la respuesta inmunitaria frente a la cápsida del vector).  
• RT y LV: riesgo de mutagénesis insercional y tumores.  
• Liposoma por electroporación.  
• piggyBac y Sleeping Beauty (plásmido + transposón).  
**H. A:** déficit de F. VIII  
• AAV, eliminar fracción B del factor para que entre en el vector. Problema: respuesta inmunitaria.  
• LV produce expresión en plaquetas pero con riesgo de tumores.  
• TG no viral (con vectores utilizados en H.B.) genera inhibidores anti-FVIII (necesario terapia inmunomoduladora coadyuvante).  
• Utilización de nanocápsulas o fibroblastos modificados genéticamente.

En estudio: optimización del F.VIII



### Alzheimer

• CERE-110, vector viral AAV 2/2 que contiene el transgén NGF (protege las neuronas).

### VIH

iARNs: degradación del ARN viral. Co infección con plásmidos con promotor ARN polimerasa II capaz de expresar iARNs.



### Diabetes

Producción de insulina por otro órgano diferente al páncreas con control de los niveles de glucosa.  
• Células K del intestino.  
• Hígado: vector AAV con pro-insulina regulado por el promotor L-PK.  
• Adenovirus con vector plasmídico con shARN.  
• Músculo.



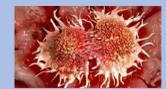
### Fibrosis Quística

Potenciador Kalydeco: corrector del gen CFTR.  
• Adenovirus y adenoasociados con ADN del CFTR: ineficiente.  
• HBoV1: eficaz *in vitro*.  
• LV: eficaz.  
• Complejo liposómico catiónico: eficaz pero genera una respuesta inmunitaria en el pulmón.



### Cáncer

• RT con genes suicidas.  
• Estimulación del sistema inmunitario del paciente  
• iARN



## ÉTICA

La terapia génica es un procedimiento innovador que plantea conflictos potenciales de orden médico, ético, económico y social. El progreso que ha tenido en los últimos años ha suscitado un amplio debate sobre su uso.

A la hora de examinar las implicaciones morales de las intervenciones genéticas se suele hacer una doble diferenciación, entre Terapia Génica sobre la línea somática (TGLS) y Terapia Génica sobre la línea germinal (TGLG), y por otro lado en función del objetivo perseguido, donde se habla de fines terapéuticos y fines perfectivos. Mientras la TGLS y los fines terapéuticos suele resultar éticamente aceptable, no ocurre así con la TGLG y la terapia que busca genes perfectivos.

## ABREVIATURAS

- TG: terapia génica.
- ADA: adenosina desaminasa.
- RT: retrovirus.
- H.B: Hemofilia B
- H. A: hemofilia A.
- AAV: virus adenoasociado.
- LV: lentivirus.
- L-PK: isoforma hepática de la piruvato quinasa.
- PCSK9 o IDOL: proteasa que degrada el receptor LDL.
- NGF: factor de crecimiento nervioso.
- iARN: ARN de interferencia.
- CFTR: regulador transmembrana de la conductancia en la fibrosis quística.
- HBoV1: Bocavirus humano quimérico.

## CONCLUSIÓN

La Terapia Génica es una realidad clínica para algunas enfermedades, pero para otras muchas es necesario seguir investigando y realizando ensayos clínicos.

Todavía quedan muchos problemas por resolver como la naturaleza de la mutación, el tamaño del gen, las reacciones adversas, la falta de efectividad, la inmunogenicidad... Pero el potencial terapéutico de la Terapia Génica y sus beneficios son muy altos pudiendo considerarse como la medicina del futuro, tanto para enfermedades hereditarias, como infecciosas, cancerígenas, hepáticas...

## BIBLIOGRAFÍA

1. Carvagnari, B. Action mechanisms and delivery into the cell. Arch. Argent. pediatr. 2011. 109:237-244
2. Liras Martín F.A., Terapia génica ¿memoria o esperanza?, 2008. Editorial Complutense S.A. Madrid. 2008
3. O'Reilly, M y cols. Hume Gene Ther. 2014. 25(6): 488-497
4. Han, S y cols, Mol Ther. 2000. 2(4): 302-317
5. Kotterman, M.a. y cols, Rev. Biomed. Eng. 2015. 17:63-89
6. Terapia Génica / Fundación BBV; traductor José Gerardo Abella. Madrid: Fundación BBV, D.L. 1997.
7. L.Rogers G, W. Herzog R, 2015. University of Florida, Department of Pediatrics, Division of Cellular and Molecular Therapy. Front Biosci (Landmark Ed), 20: 556-603.
8. Murray W. Huff, Julia M. Assini, Robert A. Hegele, 2017. American Heart Association 115:542-545.
9. Combs B, Kneynsberg A, M.Kanaan N, 2016. Methods Mol Biol. 1382:339-366.
10. M. Pytel K, W.F.W Alton E, 2015. Human Gene Therapy, 26:266-275.
11. Ramos J, Chamberlain J, 2015. Expert Opin Orphan Drugs. 3(11): 1255-1266.
12. Izquierdo Rojo M, Curso de genética molecular e ingeniería genética, 2014. Editorial: Pirámide.
13. Agudelo Vélez, C.A. y Martínez Sánchez, L.M. Salud uninorte. 2013. 29: 341-350
14. Da Cruz Freire, J.E. y cols. Rev Assoc Med Bras. 2014. 60:520-524