

Terapia génica

Realidades y perspectivas

◆
JAIME MAS OLIVA

A partir de los años setentas, la experimentación génica de células tanto procariontes como eucariontes y el desarrollo de las técnicas que permiten realizar tal experimentación han sido la actividad central de estudio de muchos laboratorios del mundo. En general, gran parte del conocimiento adquirido con esas pruebas ha permitido que en nuestros días sea posible incursionar en genomas tan complicados como el del propio ser humano, el cual presenta un alto grado de variabilidad y puede asociarse frecuentemente con diversas mutaciones. La mayoría de estas últimas se vinculan a cambios puntuales en las cadenas del ácido desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas en inglés) contenidas en los cromosomas y son neutrales, en el sentido de que su presencia en el DNA no interfiere en el funcionamiento normal de las células. Sin embargo, algunas mutaciones alteran la funcionalidad de un segmento de una de estas cadenas de DNA en particular y provocan la disfunción específica del producto de un gen (por ejemplo, la disfunción de una proteína), así como, en ocasiones, la muerte de la célula. Podríamos afirmar en forma bastante precisa que esta nueva circunstancia fisiopatológica implicará lo que conocemos como una enfermedad genética. Ahora bien, la factibilidad de interrumpir la expresión de un gen dentro de una célula a través de su homología con cadenas de DNA administradas artificialmente encierra a la posibilidad de iniciar el proceso en reversa, esto es, corregir mutaciones presentes en un segmento blanco con los fragmentos de DNA nuevos que codifican a la proteína no mutada. A este concepto, cuya principal aplicación tiene lugar en las enfermedades genéticas, se le denomina terapia génica.

El importante papel de los principios de reparación natural del DNA y de la generación de una gran diversidad genética en la naturaleza ha atraído a un gran número de investigadores al estudio de la llamada recombinación de genes. Múltiples conceptos se han derivado de estos estudios, para más tarde constituir el fundamento de la llamada recombinación homóloga, definida como cualquier proceso en donde secuencias similares de DNA intercambian información genética entre sí. Durante las

dos últimas décadas, este último concepto ha permitido el desarrollo de la gran mayoría de protocolos de terapia génica en países técnicamente desarrollados. Tales protocolos siguen fundamentalmente tres procedimientos:

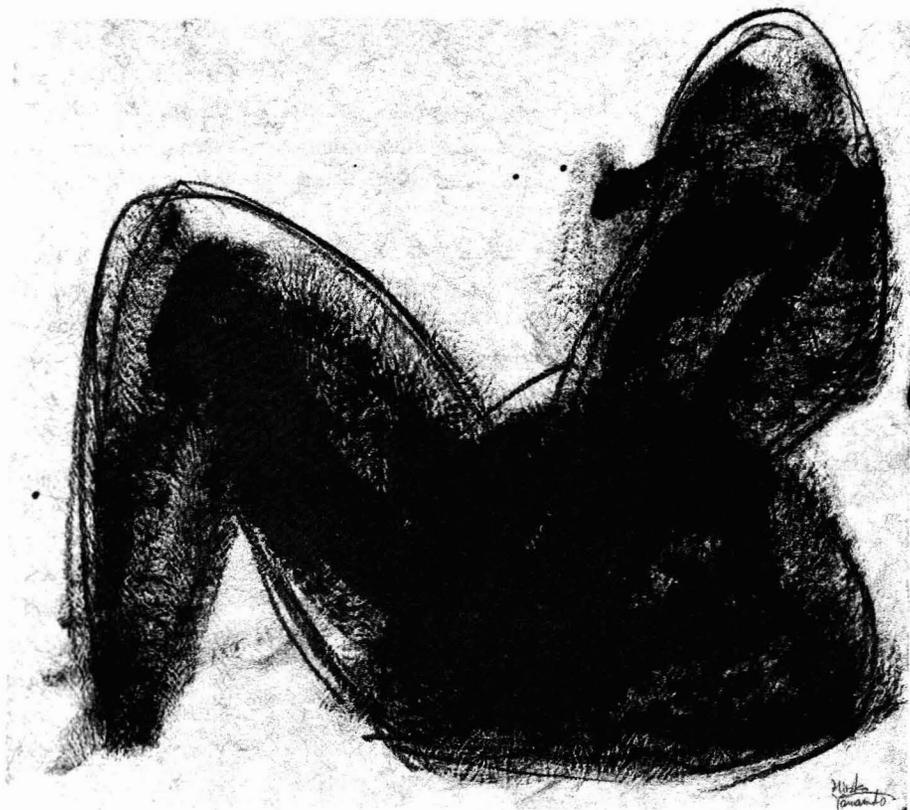
El primero consiste en la complementación génica, la cual implica la introducción de una copia activa del gen terapéutico



en células afectadas con un gen mutante, donde la posición precisa de la nueva copia de DNA en el genoma de las células afectadas en principio es irrelevante; de esta manera, el gen mutado permanece en el genoma sin ser alterado y el gen terapéutico "complementa" la función normal de éste. El segundo método es el de corrección génica y consiste en insertar en la célula un gen —o una parte de él— para que reemplace al gen endógeno mutado; de esta forma, el producto de la copia de DNA insertado se vuelve activo en lugar del producto del gen mutado el cual ya no existe. Ahora bien, desde el punto de vista exclusivo de la función, podemos definir un tercer procedimiento denominado terapia de adición génica. En este caso, copias activas de un gen que en forma natural no es expresado o que no existe en cierto tipo celular es introducido a la célula. Como resultado de esta estrategia, una nueva función puede ser incorporada a la célula.

En contraste con el gran potencial de estas prácticas, continúa siendo un importante problema la introducción de las cadenas de DNA a la célula. Se han desarrollado métodos tanto químicos como físicos para conseguirlo; sin embargo, el uso de virus como vehículos de transferencia de genes ha sido el más exitoso. Dos de estos vectores virales, los retrovirus y los adenovirus, constituyen 85% de los vectores actualmente utilizados en pruebas clínicas.

El de empleo más frecuente a la fecha ha sido construido en un retrovirus que normalmente infecta a ratones. Una versión modificada del mismo, cargada con genes "terapéuticos", se ha usado en 76 de los 106 protocolos de terapia génica aprobados en humanos en los Estados Unidos hasta 1995. La mayor parte de los protocolos diseñados para transferir genes en pacientes afectados con cáncer o con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) alcanzan resultados muy diversos en cuanto a la eficiencia de transferencia y de expresión. Por otro lado, en forma óptima, este sistema viral es capaz de insertar genes en células que están dividiéndose activamente, por lo que su uso en padecimientos donde las células no están dividiéndose implica un problema primario de consideración. Resulta importante considerar que, cuando los retrovirus son introducidos al azar en el DNA receptor, siempre existe la pequeña posibilidad de activación de oncogenes o genes supresores de tumores que, inespecíficamente, podrían desencadenar la formación de un tumor. Por tal razón, los vectores retrovirales se han utilizado en procedimientos *ex vivo*, en donde las células del paciente son obtenidas, tratadas *in vitro* y nuevamente reintroducidas al paciente, con lo cual se reduce de modo muy significativo el riesgo de desarrollar tumores secundarios.



Fue en el año de 1990, en los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América, cuando la pequeña de nombre Ashanthi De Silva, afectada con un gen alterado que normalmente codifica para la enzima diaminasa de adenosina (ADA), esencial en el funcionamiento normal del sistema inmune, pasó a la historia al ser la primera paciente receptora de sus propias células tratadas que contenían de los genes normales que codifican para la enzima. A partir de este épico procedimiento, un considerable número de protocolos de pruebas clínicas con humanos ha sido aprobado. Sin embargo, en contraste con los millones de dólares invertidos en estos estudios, tanto en instituciones académicas como en compañías privadas, aún nos encontramos en espera de la primera terapia génica de uso abierto.

Si bien como posibilidades terapéuticas actuales tenemos en un extremo el potencial reemplazo de genes y en el otro el uso tradicional de fármacos, múltiples esfuerzos se realizan para diseñar métodos intermedios entre ambos. Por un lado, gracias a ello se han creado fármacos cien por ciento específicos, formulados mediante simulación computacional e ingeniería de proteínas, y, por el otro, se han producido las llamadas drogas informacionales.

Como su nombre lo indica, las drogas informacionales son moléculas sintéticas que portan la información biológica necesaria para actuar de manera específica sobre los genes involucrados en diversos fenómenos biológicos. Dentro de este nuevo tipo de drogas biológicas se incluyen derivados de las moléculas que contienen la información genética llamadas oligonucleótidos, diseñados para modular selectivamente la expresión genética al ser introducidos en las células. Es posible recurrir a varias estrategias con tal fin, y una de ellas consiste en dirigir esas moléculas

las contra moléculas mensajeras para inhibir la traducción de éstas a la proteína correspondiente.

Otra estrategia estriba en diseñar oligonucleótidos que induzcan a su vez la degradación de oligonucleótidos contenidos normalmente en las células. A éstos se les conoce como ribozimas.

Por último, también se cuenta con la estrategia antígeno, en la que una secuencia de DNA de doble cadena dentro del núcleo de las células es el blanco de un oligonucleótido sintético.

Para diseñar estos oligonucleótidos debe reconocerse inicialmente una sola especie de moléculas mensajeras en el seno de toda la población de mensajeros contenidos en las células. Por otro lado, es importante recordar que tales oligonucleótidos, llamados antisentido, deben ser creados tan cortos como sea posible para incrementar su especificidad de unión a la secuencia blanco cuando se emplean en ciertas condiciones fisiológicas.

Las drogas tradicionales aplicadas en la quimioterapia del cáncer o del sida son formuladas para interferir principalmente con las enzimas necesarias para el crecimiento celular, la proliferación celular o la replicación viral. Sin embargo, muchos de estos agentes quimioterapéuticos no presentan ningún tipo de especificidad y, más aún, afectan el crecimiento y el metabolismo de células normales, lo cual puede tener muy serios efectos secundarios adversos.

Entre las grandes ventajas que posee la terapia con drogas informacionales, en comparación con los diferentes agentes quimioterapéuticos convencionales, se cuenta la posibilidad de diseñar oligonucleótidos de alta especificidad derivada de su secuencia, así como de su tamaño. Por ejemplo, una secuencia de 16 nucleótidos difícilmente podría ocurrir al azar en el genoma humano. La combinación de afinidad y especificidad asegura que la toxicidad sea prácticamente nula, lo que no sucede, en cambio, con agentes antivirales del tipo AZT (3' azido 3'-deoxitimidina) y otras moléculas análogas en el tratamiento del sida.

Ahora bien, dos de los principales problemas que habrán de resolverse en los próximos años consistirán nuevamente en descubrir la mejor ruta de administración de estos oligos *in vivo* y determinar la manera óptima de internalizarlos en condiciones *in vivo* en las diferentes células. Inicialmente, se consideró muy poco probable que estas moléculas informacionales, ejemplo de moléculas polianiónicas, pudieran cruzar la bicapa lipídica de las membranas; sin embargo, a lo largo de los últimos años han aparecido evidencias convincentes de que, en efecto, son capaces de atravesarla. Varios grupos de trabajo han reportado que estos oligos pueden unirse a proteínas de superficie e internalizarse mediante un proceso de endocitosis a expensas de la utilización de energía.

Los procedimientos de administración de estas moléculas informacionales van desde el uso de la vía intravenosa hasta la subcutánea e intramuscular en padecimientos que van desde el cáncer, las infecciones virales, las enfermedades autoinmunes y los procedimientos endocrinológicos, hasta las afecciones parasitarias. Debido principalmente a que las moléculas informacionales presentan muy baja toxicidad, cruzan la barrera hemato-encefálica y son eliminadas más por excreción que por degradación, las perspectivas de emplearlas en la clínica son en verdad halagüeñas. Sin embargo, si tomamos en cuenta la dificultad de introducir las en la célula, aunada al serio problema representado por la desproporcionada realización de pruebas clínicas en relación con la experimentación básica, quizás la introducción comercial de una terapia basada en drogas informacionales no ocurrirá, según los expertos, antes del año 2000.

En realidad, el análisis detallado de la situación actual de este tipo de tratamientos indica que, en un alto porcentaje, la investigación de alto nivel en este campo se efectúa en empresas privadas, las cuales han invertido cantidades enormes de dinero en respuesta a las muy buenas expectativas económicas planteadas en los últimos años. Sin embargo, sin lugar a dudas, el éxito en las pruebas clínicas y la futura comercialización de los productos derivados de ellas sólo se conseguirán, como ya se mencionó antes, mediante una sólida investigación básica. Ello permitirá probablemente a las universidades, que en general cuentan con presupuestos menos cuantiosos, intervenir directamente en la solución de los problemas que impiden aún a la llamada terapia génica convertirse en una realidad palpable. ♦

