

Genes que curan

DANIEL MARTÍNEZ FONG

Todo empezó como un juego. Los escritores de ciencia ficción divertían al lector con relatos asombrosos de animales quiméricos que resultaban de la equivocación del experimento de un sabio loco. Muchas veces eran seres humanos aberrantes, generados mediante la manipulación genética efectuada por una mente científica malvada, que después se volvían peligrosos e indestructibles. En otros casos eran las bacterias o los virus de las armas biológicas que, al infectar a un individuo, se adueñaban de la maquinaria genética de la célula huésped para producir alteraciones moleculares tan sutiles que iban aniquilando lentamente al portador y a sus descendientes. O eran células de repuesto que utilizaban los viajeros intergalácticos para reparar los tejidos dañados por la exposición accidental a las radiaciones cósmicas. De pronto, el mundo imaginario empezó a entremezclarse con el mundo real, sin fronteras definidas. La diversión se volvió seriedad. El asombro se transformó en indiferencia. Ahora es común producir plantas cuyo material genético ha sido modificado para hacerlas más resistentes a condiciones ambientales adversas y aumentar su valor nutritivo. Los esquemas terapéuticos rutinarios incluyen el uso de proteínas como la insulina, la eritropoyetina, el interferón y las interleucinas, que se obtienen industrialmente de bacterias o de líneas celulares inmortalizadas por ingeniería genética, a las que fue insertado con anterioridad el gen que las codifica, por lo que se conocen como proteínas recombinantes. Y ya está cerca el tiempo en que esas proteínas serán producidas a la medida genética del paciente para evitar el rechazo inmunológico. Las campañas de vacunación masiva que antes utilizaban los microorganismos inactivados o muertos como inductores de la protección inmunológica, ahora se hacen con las proteínas más características de esos microorganismos, que son proteínas recombinantes. La conjunción del Proyecto del Genoma Humano y la ingeniería genética materializará, en la siguiente década, los relatos de la ciencia ficción en hechos de la vida cotidiana. Por el momento, varios grupos de investigación producen casi a diario animales de laboratorio con modificaciones genéticas utilizando dos maniobras

diferentes: la inserción de un gen foráneo (transfección) o la eliminación de una secuencia conocida del material genético de la célula blanco. Esos animales de laboratorio modificados genéticamente se han convertido en una herramienta invaluable para entender las bases moleculares de las enfermedades humanas y para ensayar métodos terapéuticos más efectivos. Entre los abordajes terapéuticos más innovadores, derivados de todos esos avances de la biología molecular, está la terapia génica. Este término comprende un conjunto de procedimientos cuya finalidad es curar una enfermedad cumpliendo uno de los objetivos siguientes: eliminar el gen defectivo, reemplazar o corregir el material genético alterado o crear una función deseada añadiendo un gen nuevo a una célula.

Enfermedades tratadas con terapia génica

Teóricamente la terapia génica tiene el potencial para tratar todo tipo de enfermedades humanas —incluidos los padecimientos cancerosos, infecciosos, cardiovasculares y neurodegenerativos— a través de la modificación genética de las células del paciente. Puesto que este procedimiento puede alterar permanentemente el material genético de una persona, que es donde radica su herencia biológica (genoma), no está permitido desde el punto de vista legal transferir genes a las células que dan origen a las células sexuales —los espermatozoides y los óvulos—, sino solamente a células somáticas, que forman parte de un tejido diferenciado, como las células blancas de la sangre (linfocitos), las del hígado o las nerviosas, por mencionar algunas.

La terapia génica nació el 14 de septiembre de 1990, en los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América. Ese día, los doctores French Anderson y Michael Blaese emplearon exitosamente esta tecnología en una niña de cuatro años de edad para aliviar la severa inmunodeficiencia que padecía a causa de la carencia de la enzima deaminasa de adenosina. La falta de esta proteína ocasiona la muerte de los linfocitos, importantes

mediadores de la respuesta inmune. Al estar ausentes, una simple infección leve es capaz de producir en el paciente (frecuentemente un niño) un desenlace fatal. Aquella niña recibió la trans-fusión de sus propios linfocitos (que previamente se le habían extraído), pero modificados genéticamente para sobreexpresar el gen que codifica la deaminasa de adenosina con el propósito de elevar sus niveles y alargar así la vida de los linfocitos. A partir de entonces ha habido un incremento explosivo en la aplicación de la terapia génica para tratar una gran variedad de enfermedades, en su gran mayoría cancerosas. Para marzo de este año, tan sólo en los Estados Unidos se aprobaron 122 protocolos de terapia génica vinculados al tratamiento de mil pacientes. También ha habido una gran difusión de la mencionada terapia: ahora hay "clonas" en Canadá, Israel, China, Japón y Polonia.

Más de setenta por ciento de los protocolos aprobados legalmente son para tratar las enfermedades cancerosas; pretenden destruir las células tumorales mediante dos estrategias: una consiste en transferir genes que estimulan la respuesta inmune y la otra en insertar genes de "susceptibilidad" que hacen vulnerable el tumor a fármacos inofensivos en condiciones normales. La estimulación de la respuesta inmune se logra sobreexpresando moléculas proteicas conocidas genéricamente como citocinas, las cuales participan en la respuesta inmune. En este caso se puede utilizar cualquier tejido para insertar los genes que codifican para las citocinas, puesto que el propósito es incrementar sus niveles en la sangre y en los tejidos. Otra variante consiste en transfectar genes en las células tumorales que codifiquen para proteínas de superficie, extrañas al organismo huésped, y que actúen como antígenos al favorecer la destrucción del tumor por los mecanismos inmunológicos comunes. La estrategia de transfectar genes de "susceptibilidad" en las células tumorales es más ingeniosa. En este caso, las células tumorales son transfectadas con genes que codifican para proteínas bacterianas o virales que suelen transformar un fármaco inofensivo en tóxico. Este último aniquila las células tumorales, pero no las normales, puesto que sólo las tumorales recibieron el gen de "susceptibilidad". Actualmente están en la lista de espera para su aprobación protocolos basados en estrategias más complejas que tienden a eliminar el gen defectuoso o a sustituirlo con el normal, y otros más que, fundados en los avances del conocimiento de los mecanismos moleculares de la transformación celular, proponen sobreexpresar los genes que codifiquen para los factores "supresores" de la actividad tumoral o para señales moleculares que induzcan la muerte programada (apoptosis).

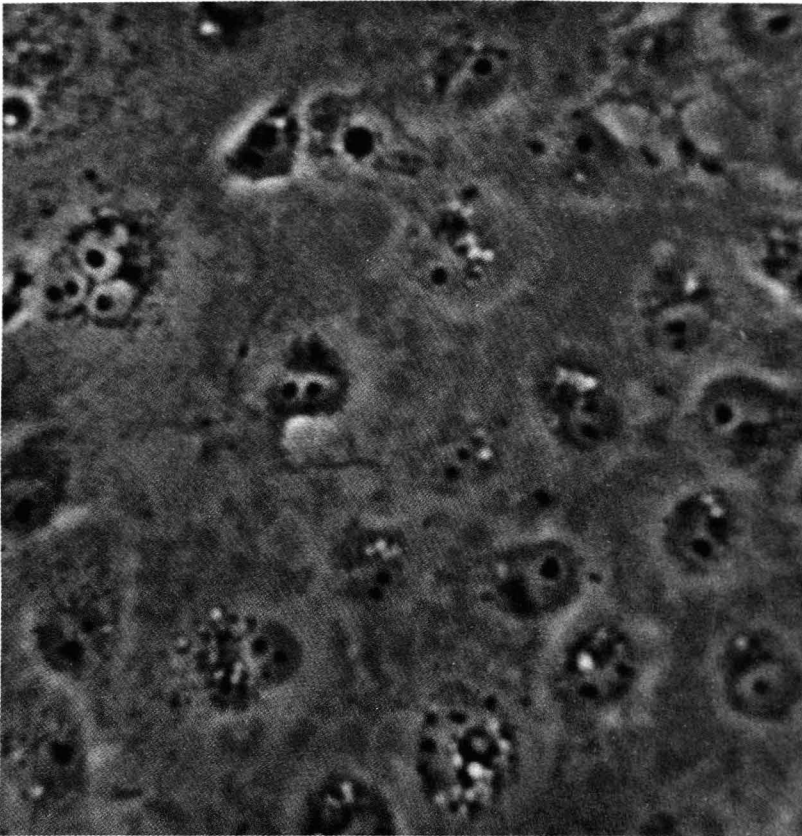
El otro treinta por ciento de los protocolos de terapia génica autorizados se relacionan con una gran variedad de enfermedades no cancerosas, generalmente ocasionadas por la deficiencia de un solo gen y llamadas metabólicas; por ejemplo, la hemofilia, la hipercolesterolemia familiar, la fibrosis quística, la deficiencia de α -1 antitripsina y la analbuminemia. La estrategia para tratar estos males resulta más fácil de entender. El tratamiento es muy simple: se trata de transferir el gen que produzca la proteína faltante. Un ejemplo muy ilustrativo de este método lo constituye la hipercolesterolemia familiar. Esta enfermedad puede ser ocasionada por una gran variedad de mutaciones del gen que codifica

para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (LDL). Este receptor regula los niveles sanguíneos del colesterol mediante la internalización de la LDL, el transportador más importante de colesterol en humanos. Debido al funcionamiento anormal del receptor LDL, el colesterol no entra a la célula para degradarse, se acumula en el plasma y se deposita en las paredes arteriales, lo cual provoca una acelerada arteriosclerosis y, a la larga, un prematuro infarto cardíaco. En 1993, un grupo de científicos de las universidades de Michigan y Pensilvania realizaron con éxito la primera restitución del gen que codifica para el receptor LDL en un paciente con hipercolesterolemia familiar. Este paciente recibió células hepáticas de un donador sano pero modificadas genéticamente con objeto de sobreexpresar el gen que codifica para el receptor LDL.

Se prevé aplicar la terapia génica en algunos padecimientos neurológicos, debido al fracaso de otros intentos de cura. Tal es el caso de la enfermedad de Parkinson, ocasionada por la muerte gradual de las neuronas que producen dopamina en un área del cerebro especializada en el control del movimiento, conocida como estriado. Los trasplantes de médula adrenal del mismo paciente y los trasplantes de neuronas embrionarias en el estriado no han tenido el éxito esperado. Por esta razón, se ha planteado que la sobreexpresión de la hidroxilasa de tirosina (enzima que interviene en la producción de dopamina) en las neuronas sobrevivientes podría ser una alternativa eficaz en el tratamiento del mal mencionado. Otras alteraciones neurodegenerativas como la demencia senil (enfermedad de Alzheimer) también serían susceptibles de terapia génica. Se ha planteado el empleo de las llamadas neurotrofinas, proteínas que favorecen la sobrevivencia de las neuronas e inclusive estimulan su regeneración. Por consiguiente, una estrategia lógica para el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas sería la sobreexpresión de neurotrofinas en el sistema nervioso central.

La práctica de la terapia génica

Hay dos formas de aplicar la terapia génica. La técnica *ex vivo* consiste en extraer células del paciente, transfectarlas en el laboratorio con el gen foráneo y regresarlas al mismo ser humano. Este procedimiento está limitado a las células que se pueden extraer y regresar con facilidad. Las células sanguíneas y sus progenitoras, sobre todo las de la serie blanca (linfocitos), se prestan para tal método, el primero en emplearse y el más utilizado hasta la fecha, aunque tiene la seria desventaja de no ser aplicable en la mayoría de los tejidos. No es posible extraer completos el hígado, el riñón, el corazón o el cerebro para modificarlos genéticamente y luego implantarlos. Ante semejante dificultad, se ideó utilizar trasplantes de líneas celulares alogénicas (no del paciente), transfectadas en el laboratorio con el gen del que se desea obtener beneficios. Este método se empleó para restituir el receptor LDL en un paciente con hipercolesterolemia familiar; en esa ocasión se transplantaron células hepáticas alogénicas. No obstante las ventajas representadas por los trasplantes alogénicos modi-



Microfotografía que muestra la internalización de un gen foráneo por células cancerosas de hígado humano (Hep G2) utilizando la técnica de envío dirigido de genes. Los gránulos claros que se observan en el interior de las células corresponden al gen marcado con un producto fluorescente. El gen transfectedo que codifica para una proteína bacteriana fue expresado por las mismas células (Martínez Fong et al., 1993; *Hepatology* 18:432)

ficados genéticamente, subsiste la dificultad del rechazo inmunológico ocasionado por la presencia de células no propias. Con el fin de solucionar ambos problemas surgió la terapia génica *in vivo* o transferencia directa. Esta técnica se caracteriza por enviar el gen a la población celular del órgano del paciente que se desea modificar genéticamente, utilizando diferentes rutas y medios de transporte (acarreadores de genes). Aunque la modalidad *in vivo* es la más atractiva, aún está en desarrollo; no obstante, se ha utilizado en el ser humano para tratar algunos pocos padecimientos, generalmente casos de cánceres y de sida en sus fases terminales.

Acarreadores de genes

La clave del éxito de la terapia génica radica en la estrategia para introducir el gen foráneo en el núcleo de la célula que se desea modificar en un organismo vivo. Si bien a la fecha se cuenta con métodos eficientes para introducir genes virtualmente en cualquier tipo de célula *in vitro*, hay pocos métodos para transfectar poblaciones celulares específicas *in vivo*.

En la carrera acelerada por lograr el medio de transporte de genes más eficiente y seguro al aplicar la técnica *in vivo*, se ha intentado todo tipo de artilugios experimentales. Aprovechando una característica peculiar de las terminales nerviosas, con-

sistente en capturar diferentes materiales y transportarlos retrógradamente, se ha logrado transferir material genético al cuerpo neuronal. El gen es depositado en la zona de invasión y, después de su captura, es conducido por vía retrógrada al cuerpo celular donde se expresa. También se ha intentado la transferencia de material genético empaquetado en "microbolsas" de membranas artificiales (liposomas) y se ha utilizado inclusive una "pistola de genes", para disparar partículas microscópicas de oro cubiertas con el material genético contra las células a las que se desea introducir el gen. Los métodos más utilizados han sido los basados en vectores virales. Estos vectores son virus inactivados, a cuyo material genético se le removieron las secuencias necesarias para reproducirse y se las sustituyó con el gen que se desea introducir. Una vez que el virus infecta a la célula, su material genético modificado se aloja en algún cromosoma de la célula huésped y empieza a transcribir su información —en este caso, la proteína del gen introducido en lugar de las secuencias del material genético original—. Sin embargo, la expresión de proteínas tóxicas que ocurre aún en presencia de la inactivación y el peligro de ocasionar la enfermedad viral por recombinación del vector defectivo con el tipo silvestre han frenado la difusión del método aquí descrito.

Una alternativa ante los métodos virales es el "envío dirigido de genes", cuya misión es la de entregar el gen a "domicilio" (exclusivamente a la población celular que se desea modificar genéticamente). Para la entrega dirigida, el gen foráneo se une a moléculas, en relación con las cuales la célula destinataria (célula blanco) posee receptores específicos acoplados a procesos de internalización. El complejo resultante gen-acarreador será internalizado selectivamente por las células destinatarias después de su administración intravenosa. En el caso de los hepatocitos, la lactosa (galactosa-glucosa) es la molécula remitente ideal debido a su alta afinidad y aidez por el receptor de galactosa de los hepatocitos (que está acoplado a internalización). Con esta base, nuestro laboratorio ha unido químicamente la lactosa a un gen "reportero" (que codifica para una proteína bacteriana). El complejo resultante fue inyectado por vía intravenosa y, en su paso obligado por el hígado, fue internalizado selectivamente por los hepatocitos, donde se expresó (ver foto).

Otro grupo de investigadores utilizó una asialoproteína como molécula remitente para corregir la analbuminemia de las ratas Nagase y para reconstituir el receptor vinculado a la lipoproteína de baja densidad en el conejo Watanabe, un modelo experimental de la hipercolesterolemia familiar. Recientemente, en nuestro laboratorio se han construido dos acarreadores de genes para enviarlos a dos áreas cerebrales involucradas con enfermedades neurodegenerativas. Uno dirigirá a los genes foráneos al núcleo colinérgico central asociado con la enfermedad

de Alzheimer y otro se destinará a las neuronas dopaminérgicas relacionadas con la enfermedad de Parkinson.

Perspectivas de los acarreadores de genes

Hasta ahora, ninguno de los métodos de transferencia de material genético *in vivo* representa una solución perfecta, ya que todos acusan algunas desventajas que restringen su aplicación, y los que parecen más promisorios están en proceso de refinamiento. Los obstáculos por superar son la transitoriedad de la expresión del gen foráneo y la regulación de su expresión. Se desea que el gen foráneo permanezca activo durante toda la vida de la persona huésped, pero que su expresión pueda "prenderse" y "apagarse" conforme se necesite de la proteína que codifica. Por ejemplo, un joven paciente diabético que recibió el gen de la insulina requiere que el gen se "prenda" después de las comidas y se "apague" en los lapsos de ayuno para que la insulina regule adecuadamente los niveles de glucosa. Sería muy peligroso que el gen de la insulina siempre estuviera activado porque entonces los niveles de glucosa estarían tan disminuidos que ocasionarían un "choque" hipoglucémico. Además, sería muy molesto que el paciente tuviera que estar conectado todo el tiempo a un frasco de solución glucosada para mantener sus niveles de glucosa sanguíneos en valores normales.

El grupo científico que resuelva la transitoriedad y la regulación del gen foráneo y que logre sintetizar el acarreador de genes eficiente, específico y seguro tendrá la gloria de haber convertido la terapia génica *in vivo* en una práctica ordinaria. Para entonces, los médicos clínicos podrán obtener, para cada tipo de enfermedad, dos ampolletas: una que contenga el gen construido en el vector de expresión ideal y otra el acarreador específico, dependiendo del tejido que se desee transfectar, y un instructivo con la indicación: mezclar el contenido de ambas ampolletas en condiciones estériles, agitar la mezcla suavemente a temperatura ambiente durante treinta minutos, completar el volumen a cien mililitros con solución glucosada y administrar la dilución por vía endovenosa en un lapso de una hora.

Evaluación de los resultados de la terapia génica

Sería prematuro emitir en este momento un juicio objetivo sobre el éxito o el fracaso de la terapia génica. A pesar de los beneficios espectaculares que se han logrado en algunos casos, existe un fuerte rechazo a la difusión de su práctica. Sus acérrimos enemigos fundamentan sus críticas en el fracaso con que ha topado al intentar curar a los enfermos de cáncer y de sida, sin considerar que se ha tratado de pacientes en etapas terminales y que recibieron previamente otro tipo de tratamiento. Argumentan también que muchos de los mecanismos celulares en los que se basan las estrategias terapéuticas aún están en debate y que la expresión del gen es pasajera. Además, temen que los vectores virales, que han mostrado más efectividad, causen más problemas que benefi-

cios. Sin embargo, aún es temprano para saber si eso puede suceder en la mayoría de los casos. Los pacientes que recibieron genes *ex vivo* o *in vivo* mediante vectores virales no han desarrollado todavía alguna complicación que justifique el temor ante estos últimos.

La diversidad de protocolos aprobados para usarse en miles de pacientes en los Estados Unidos y la aparición de la terapia génica en otros países sugieren que esta práctica va a ser un procedimiento terapéutico común para el año 2000.

Infraestructura que requiere la aplicación de terapia génica

La terapia génica ha sido el resultado de arduos años de investigación básica de grupos científicos bien consolidados, albergados en instituciones con una amplia tradición en la biología molecular. El exacto conocimiento de la biología molecular de las formas más simples de vida (como las bacterias y los virus) y de los mecanismos implicados en el ciclo celular (crecimiento y diferenciación), en la apoptosis y en la transformación celular está arrojando sus frutos en una aplicación útil: la cura mediante genes. Para pasar del conocimiento básico a la aplicación, esas instituciones requirieron apoyos millonarios, pues debían adquirir la más alta tecnología y pagar la exclusividad del trabajo de sus investigadores. Además, medió una nueva cultura de colaboración interinstitucional fundamentada en una comunicación rápida y eficiente entre los grupos básicos, clínicos, farmacéuticos e industriales, en vínculo muy estrecho con el poder legislativo a través de comités concejales sobre esta nueva disciplina. En nuestro país las cámaras de senadores y de diputados requerirán ahora un comité que revise y apruebe los protocolos de terapia génica en humanos. Además, que supervise la correcta aplicación de los protocolos y que sancione las violaciones tanto éticas como tecnológicas a los lineamientos aprobados. La larga cadena de eventos, desde que se clona el gen hasta que se aprueba su aplicación, tiene la misión de garantizar que el procedimiento terapéutico sea seguro para el paciente, para sus contactos directos y para la población en general. ♦

Lecturas recomendadas

- Huber, B. E. y J. S. Lazo (eds.), "Gen Therapy for Neoplastic Diseases", en *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 716, 1994.
- Martínez-Fong, D., J. E. Mullersman, A. F. Purchio, J. Armendáriz-Borunda y A. Martínez-Hernández, "Non-Enzymatic Glycosylation of Poly-L-lysine: A New Tool for Targeted Gen Delivery", en *Hepatology*, 1994, núm. 20, pp. 1602-1608.
- Martínez Fong, D., "El receptor LDL", en *Boletín de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C.*, 1995, núm. 2 (3), pp. 5-11.
- Treco, D. A. y R. F. Selden, "Non-viral gen therapy", en *Molecular Medicine Today*, 1995, núm. 1, pp. 314-321.