

TABLA 42-4 REQUISITOS DE APOYO A LAS DECISIONES CLÍNICAS PARA APLICAR LAS TECNOLOGÍAS MOLECULARES EN LA MEDICINA CLÍNICA

| NECESIDAD | RECURSOS DISPONIBLES |
|--|---|
| Depósitos de conocimientos médicos gestionados a nivel central | Conocimiento autorizado sobre el modo en el que las intervenciones moleculares deberían utilizarse en la práctica clínica (p. ej., U.S. Preventive Services Task Force, U.S. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention initiative) Depósitos de datos estructurados experimentales genómicos y moleculares (p. ej., PharmGKB para los datos experimentales farmacogenéticos y farmacogenómicos, así como para el conocimiento organizado; NCBI dbGaP para los datos de estudios que evalúen la interacción entre genotipos y fenotipos; así como NCBI GEO para los datos de expresión génica) Esfuerzos a gran escala para la gestión de la información médica en los sistemas sanitarios (Intermountain Healthcare, Partners HealthCare) |
| Representación estandarizada de los datos moleculares y de los pacientes | Terminologías estandarizadas de la información para los datos de los pacientes tanto moleculares como tradicionales (p. ej., estándar de datos HL7, incluidos los estándares de datos HL7 Clinical Genomics, y el nuevo estándar de la historia clínica virtual H7; openEHR Archetypes; SNOMED CT; LOINC; BSM;L; MAGE-ML; National Cancer Institute/caBIG Common Data Elements) |
| Métodos estándar para localizar y recuperar los datos de los pacientes y moleculares | Métodos para localizar y recuperar los datos de los pacientes en los distintos sistemas (p. ej., el estándar preliminar HL7 Retrieve, Locate, and Update Service y la especificación técnica correspondiente OMG) Iniciativas regionales y nacionales para el intercambio seguro de datos sanitarios (p. ej., U.K. National Health Service Connecting for Health, U.S. Nationwide Health Information Network prototypes, caBIG, Indiana Health Information Exchange) |
| Compartir y coordinar la información | Iniciativas para compartir conocimientos médicos (p. ej., Morningside Initiative, U.S. Federal CDS Collaboratory) Esfuerzos para especificar los requisitos funcionales para los sistemas de HCE (p. ej., HL7 EHR System Functional Model standard) Uso coordinado de los estándares de la tecnología sanitaria disponibles (p. ej., U.S. Health Information Technology Standards Panel, Integrating the Healthcare Enterprise) |

BSML = Bioinformatic Sequence Markup Language; caBIG = cancer Biomedical Informatics Grid; dbGaP = database of Genotype and Phenotype; GEO = Gene Expression Omnibus; HCE = historia clínica electrónica; LOINC = Logical Observation Identifiers Names and Codes; MAGE-ML = lenguaje de marcado para micromatrices y expresión génica; NCBI = National Center for Biotechnology Information; PharmGKB = Pharmacogenomics and Pharmacogenetics Knowledge Base; SNOMED CT = Systematized Nomenclature of Medicine, Clinical Terms.

Adaptada de Kawamoto K, Lobach D, Willard H, Ginsburg G. National clinical decision support infrastructure to enable the widespread and consistent application of genetics and genomics in healthcare. *PMCID: PMC2666673* 2009;9:17.

ejemplo, para apoyar a un clínico en el tratamiento de una paciente con cáncer de mama, un sistema de historia clínica electrónica podría tener en cuenta el perfil de expresión génica de la biopsia del cáncer de la paciente y ofrecer una predicción individualizada del modo probable en el que la paciente responderá a las diversas opciones terapéuticas. Un aspecto fundamental para la visión de una medicina molecular apoyada en las tecnologías de la información será una infraestructura nacional de ADC (tabla 42-4) que permita un conocimiento experto y centralizado de la información molecular que pueda influir de forma homogénea en las prácticas clínicas en todo un país. La verdadera aplicación de las tecnologías moleculares requerirá unos sistemas de ADC sólidos que 1) accedan a los datos moleculares y de otro tipo de los pacientes localizados en la historia clínica electrónica, 2) evalúen e integren esta información en relación con las diversas normas y 3) ofrezcan la información de un modo que permita establecer unas recomendaciones viables en tiempo real para un paciente concreto.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Chadwick R. Personal genomes: no bad news? *Bioethics*. 2011;25:62-65. *Revisión exhaustiva de los efectos potenciales de la secuenciación hologenómica sobre las personas y sus vidas.*
- Ginsburg GS, Willard HF, editors. *Genomic and Personalized Medicine*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2011. *Trabajo exhaustivo sobre el descubrimiento, la investigación traslacional, clínica y política, así como sobre la evidencia para guiar la información molecular y las tecnologías desde el laboratorio a la cabecera del paciente.*

43

TERAPIA CELULAR Y GÉNICA

KARL SKORECKI Y EITHAN GALUN

TERAPIA CELULAR

La terapia celular se refiere al suministro de células vivas a pacientes para la prevención y tratamiento de enfermedades humanas. La forma de terapia celular mejor establecida y que más se practica es la administración de sangre y hemoderivados como medicina transfusional. Otras aplicaciones emergentes de la terapia celular son el uso de células como vehículos para la aportación de genes o de productos génicos, como se comenta en la sección sobre terapia génica.

La medicina regenerativa es un campo en el que se administran células de distintas fuentes para aumentar, reparar o reemplazar tejidos u órganos lesionados por una enfermedad, lesión, o anomalía congénita. A este respecto, el trasplante de órgano sólido puede considerarse una forma de terapia celular. Al igual que la sangre o la transfusión de hemoderivados (cap. 180), dicho trasplante proporciona células completamente

diferenciadas, que reemplazan funciones del órgano trasplantado (cap. 48). Una de las limitaciones prácticas principales para el trasplante de órganos sólidos es la escasez de órganos disponibles con relación a la creciente demanda. En determinadas formas de fallo sistémico de un órgano, como la enfermedad neurodegenerativa, el trasplante de órgano no es una opción terapéutica. Por estas razones está progresando rápidamente el desarrollo de las terapias celulares seguras y eficaces.

Células madre de origen humano

Las células madre poseen dos propiedades definitorias: 1) la capacidad de autorrenovación y 2) la capacidad de diferenciarse en tipos celulares con funciones especializadas. Esto puede ocurrir a nivel de la célula madre individual mediante el proceso de división celular asimétrica (fig. 43-1), o a nivel de la población celular, en la que un subgrupo de células se diferencia y el resto de células madre permanecen quiescentes o se replican a sí mismas como células madre. Después de la división celular asimétrica, los derivados de las células no-madre pueden generar una reserva de células de un sistema de células amplificadoras en tránsito restringidas a un sistema orgánico con una mayor capacidad proliferativa, o pueden diferenciarse mediante cambios en el perfil de expresión epigenética y génica hasta alcanzar el estado diferenciado final. Este marco fue desarrollado tras el descubrimiento de que las células de la médula ósea eran capaces de reconstituir el sistema hematopoyético de los adultos. Estas células madre hematopoyéticas constituyen la base para el trasplante de células madre hematopoyéticas, la única forma de terapia celular empleada actualmente en la práctica clínica (cap. 181). Aparte de estas dos propiedades cardinales de autorrenovación y capacidad de diferenciación, las células madre también pueden clasificarse según tres atributos adicionales, que son la capacidad replicativa (limitada frente a ilimitada), el ámbito o potencia de diferenciación (p. ej., pluripotente, multipotente, oligopotente, unipotente) y su lugar en la historia vital del organismo (en el desarrollo o posterior al desarrollo). Por tanto, la terminología más reciente ha ampliado el uso del término *células madre* para cubrir un rango más amplio de tipos celulares que contribuyen al desarrollo de órganos o que tienen la capacidad de repoblar tejidos y sistemas orgánicos. El término *células madre*, junto con la formulación apuntada antes, también se ha extrapolado recientemente para describir ciertas subpoblaciones de células responsables básicamente del crecimiento de tumores malignos. Sin embargo, dado que las células madre del cáncer (cap. 185) no tienen ningún papel en la regeneración tisular, no se volverán a comentar en este capítulo.

Células madre embrionarias y pluripotentes inducidas

El huevo fecundado, o cigoto, se desarrolla primero como un blastocisto, después como un embrión y luego como un feto. El blastocisto es evidente al quinto día de la fecundación y está formado por 200-250 células, de las que 30-34 forman la masa interna celular o epiblasto. Las restantes células constituyen la masa celular externa (fig. 43-2). Después de que el blastocisto entero se fija a la pared del útero, comienza el desarrollo embrionario y extraembrionario. En la etapa de blastocisto, cada célula de la masa celular interna tiene la capacidad de diferenciarse en derivados

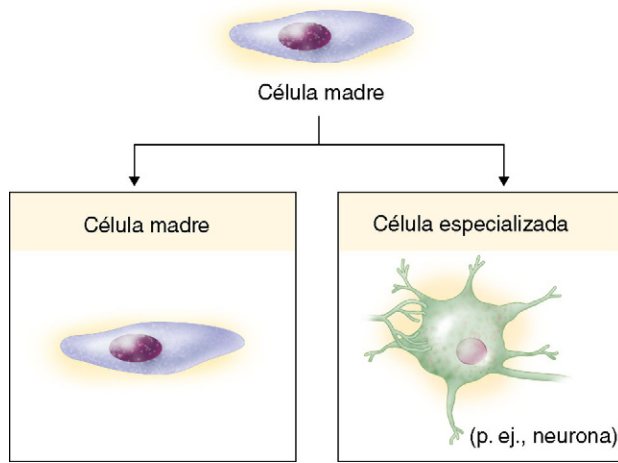


FIGURA 43-1. División celular asimétrica. Aunque esta primera característica fue considerada como una *característica necesaria* en las células madre basándose en la descripción original en el sistema hematopoyético adulto, no todos los tipos de células que actualmente se denominan células madre tienen obligatoriamente esta propiedad. Por ejemplo, las células madre embrionarias humanas se dividen por división celular simétrica.

de las tres capas germinales (ectodermo, mesodermo y endodermo). En el desarrollo normal, estas células no persisten más allá del estadio de blastocisto. Los blastocistos preimplantación que no se han empleado, creados para la fecundación in vitro, pueden utilizarse para generar células madre embrionarias humanas (CMEh) a partir de la masa celular interna microdisecionada. En condiciones de cultivo apropiadas, estas CMEh muestran una autorrenovación ilimitada en el cultivo celular en el estado indiferenciado sin sufrir senescencia replicativa (es decir, perder la capacidad de dividirse). Esto se debe a la expresión de niveles elevados de telomerasa, una enzima que protege contra la pérdida asociada a la senescencia de los extremos teloméricos de los cromosomas lineales durante ciclos repetidos de división celular. Bajo condiciones de cultivo apropiadas, las CMEh son pluripotentes; pueden diferenciarse en cualquier tipo celular conocido del cuerpo.

Un objetivo principal en la investigación con células madre es dirigir el proceso de diferenciación para posibilitar el enriquecimiento en la homogeneidad del tipo celular de reemplazo añadiendo factores de crecimiento que activen rutas de señalización celular que se emplean en el desarrollo embrionario normal. Esta estrategia ha producido un enriquecimiento parcial de células con propiedades similares a las auténticas células β pancreáticas fetales, a las células del endotelio vascular y miocardiocitos, así como células más maduras con propiedades similares a las de los huesos, tejido conjuntivo y a las células retinianas, neuronales y hepáticas.

Más recientemente, se han desarrollado métodos para reprogramar las células somáticas adultas diferenciadas a un estado de pluripotencia, lo que da lugar a células madre pluripotentes inducidas (CMPi; fig. 43-3). Los métodos para lograr esto se han puesto a punto gracias a la identificación de las diversas vías de señalización celular y de regulación génica que confieren la pluripotencia a las CMEh, incluidos los factores de transcripción Nanog, Oct-4 y Sox-2. La disponibilidad de CMPi a partir de un paciente concreto que requiera células de reemplazo puede evitar los problemas de rechazo inmunitario, debido a que estas CMPi serán reconocidas como de origen autólogo o propias, en lugar de alogénicas. Además, el uso de CMPi parece suscitar menos preocupaciones éticas, como se indicará más adelante. Las CMPi obtenidas de pacientes con ciertas enfermedades genéticas también proporcionan una plataforma experimental excelente para estudiar las vías celulares y moleculares que se alteran durante el desarrollo de los tipos celulares y tejidos afectados.

Durante los últimos estadios del desarrollo humano prenatal, las células de origen fetal suelen presentar una capacidad proliferativa aumentada, así como una aptitud para diferenciarse en más de un tipo de célula madura o especializada. Así, estas células se han empleado como fuentes de terapia celular en la medicina regenerativa y pueden considerarse también células madre o progenitoras, pero con una capacidad de replicación y un potencial de diferenciación más restringidos que en el caso de las CMEh y las CMPi. Hasta el momento, las únicas células madre derivadas del feto que se han empleado con éxito documentado en aplicaciones clínicas humanas son las células dopaminérgicas derivadas del sistema nervioso fetal en desarrollo para tratar la enfermedad de Parkinson (cap. 416).

El uso de las CMEh y las CMPi en una plataforma terapéutica puede dar lugar al desarrollo de teratomas y tumores malignos a partir de células indiferenciadas residuales, después de la administración de lo que parece ser una población de células de reposición totalmente diferenciada. Antes de dar el paso a los ensayos clínicos, hay que esclarecer de forma definitiva este temor.

Células madre adultas (posnatales)

Después del nacimiento, se cree que muchos tejidos contienen una subpoblación de células con la capacidad de autorrenovación de larga duración combinada con la capacidad para diferenciarse en tipos celulares más maduros con funciones especializadas. Las células madre adultas generan un estado intermedio que se caracteriza por una proliferación potenciada (células amplificadoras en tránsito o células progenitoras), antes de alcanzar la diferenciación final completa (fig. 43-4).

Las células madre adultas, que, por lo que se cree, representan menos del 0,01% del número total de células, se localizan en compartimentos de soporte especializados en diversos lugares en el sistema hematopoyético y en más sitios, y responden a estímulos en su microambiente local. El éxito del trasplante de células madre hematopoyéticas en el tratamiento de la insuficiencia de la médula ósea o junto con la terapia mieloablativa en los tumores malignos ha animado a los científicos a buscar células madre adultas en otros órganos y sistemas orgánicos. Se ha anunciado que entre los tejidos adultos y los sistemas de órganos que contienen células madre están la médula ósea (compartimentos hematopoyético y mesenquimatoso) y la sangre periférica, el sistema nervioso central, el endotelio de los vasos sanguíneos, la pulpa dental, el epitelio de la piel, el tejido adiposo, el aparato digestivo, la córnea, la retina, el testículo y el hígado. Existe controversia con respecto a la existencia de células madre adultas en el riñón, el páncreas y el corazón. No está claro si las células madre adultas representan reminiscencias de células madre del desarrollo que persisten en la edad adulta con el propósito de mantener y reparar los órganos o si son un tipo celular distinto dedicado a este último propósito.

Dado su bajo porcentaje, la dispersa distribución tisular y la definición incompleta de los marcadores, conseguir aislar células madre adultas para uso terapéutico ha supuesto un reto técnico y los mayores éxitos descritos hasta el momento corresponden a las células madre mesenquimatosas, que son un tipo de célula progenitora adulta multipotencial presente en el nicho de la médula ósea que sirve de apoyo a la hematopoyesis. Las células mesenquimatosas también se han aislado a partir de tejido adiposo, sangre, cordón umbilical y músculo. Aunque las células mesenquimatosas y otras células progenitoras adultas multipotenciales han demostrado en algunos modelos animales experimentales que se diferencian en una amplia variedad de tipos celulares que representan las tres capas germinales, no poseen la capacidad de desarrollarse hacia cada tipo celular, como hacen las CMEh y las CMPi.

Existe una cierta evidencia de que, aparte de la utilidad terapéutica de la reconstitución hematopoyética, el trasplante de médula ósea también puede aportar una cierta contribución a la restauración de la función de sistemas orgánicos después de algunas formas de trasplante de órgano sólido. Aunque suele considerarse que las células madre adultas están comprometidas con un espectro estrecho de diferenciación en un sistema orgánico, algunos estudios han sugerido la posibilidad de que algunas células madre adultas puedan mostrar unos grados imprevistos de plasticidad. La *plasticidad* se refiere a la capacidad de las células diferenciadas de experimentar una transdiferenciación en derivados celulares maduros de otro origen de la línea germinal. Esta plasticidad permitiría que las células madre hematopoyéticas derivadas de la médula ósea o mesenquimatosas se transdiferenciaran en células cardíacas, endoteliales vasculares, del tejido conjuntivo, neuronales o de otro tipo, lo que ofrece posibilidades prometedoras en los ensayos clínicos de medicina regenerativa.

Al igual que las CMPi, las células madre posnatales o adultas son capaces de obviar dos de los obstáculos que aparecen en la terapia con células madre del desarrollo: los problemas éticos referentes al uso de células originadas en el desarrollo, así como el rechazo aloinmunológico. Las células madre adultas pueden tener la ventaja adicional de ser menos propensas a la aparición de teratomas y tumores. Las CMEh y sus derivados suelen provenir de una fuente no relacionada con el posible receptor, por lo que pueden considerarse un injerto alogénico. Las investigaciones han confirmado la inmunogenicidad de las CMEh a pesar de su origen en una etapa muy precoz del desarrollo. Las células madre adultas y las CMPi de origen autólogo no deberían suscitar una respuesta aloinmunológica, por lo que proporcionan una posible solución. Por otra parte, cuando la enfermedad subyacente es un proceso destructivo autoinmunitario (p. ej., diabetes mellitus de tipo 1), es de esperar que las células de reposición de origen autólogo también podrían ser objetivos del proceso fisiopatológico mediado por mecanismos inmunitarios.

Aplicaciones en terapia celular para enfermedades específicas

Excepto para el trasplante de células madre hematopoyéticas y de órganos sólidos, se han llevado a cabo terapias celulares experimentales en un número limitado de ensayos clínicos en pacientes.

Enfermedad neurodegenerativa y lesión neuronal

La enfermedad de Parkinson (cap. 416) supone la pérdida de neuronas dopaminérgicas que contienen melanina en la pars compacta de la sustancia negra del mesencéfalo, a la vez que una reducción de dopamina del estriado. Esta pérdida celular es responsable de las características motoras principales de la enfermedad. Aunque la terapia farmacológica sustitutiva dopaminérgica es eficaz en los estadios precoces de

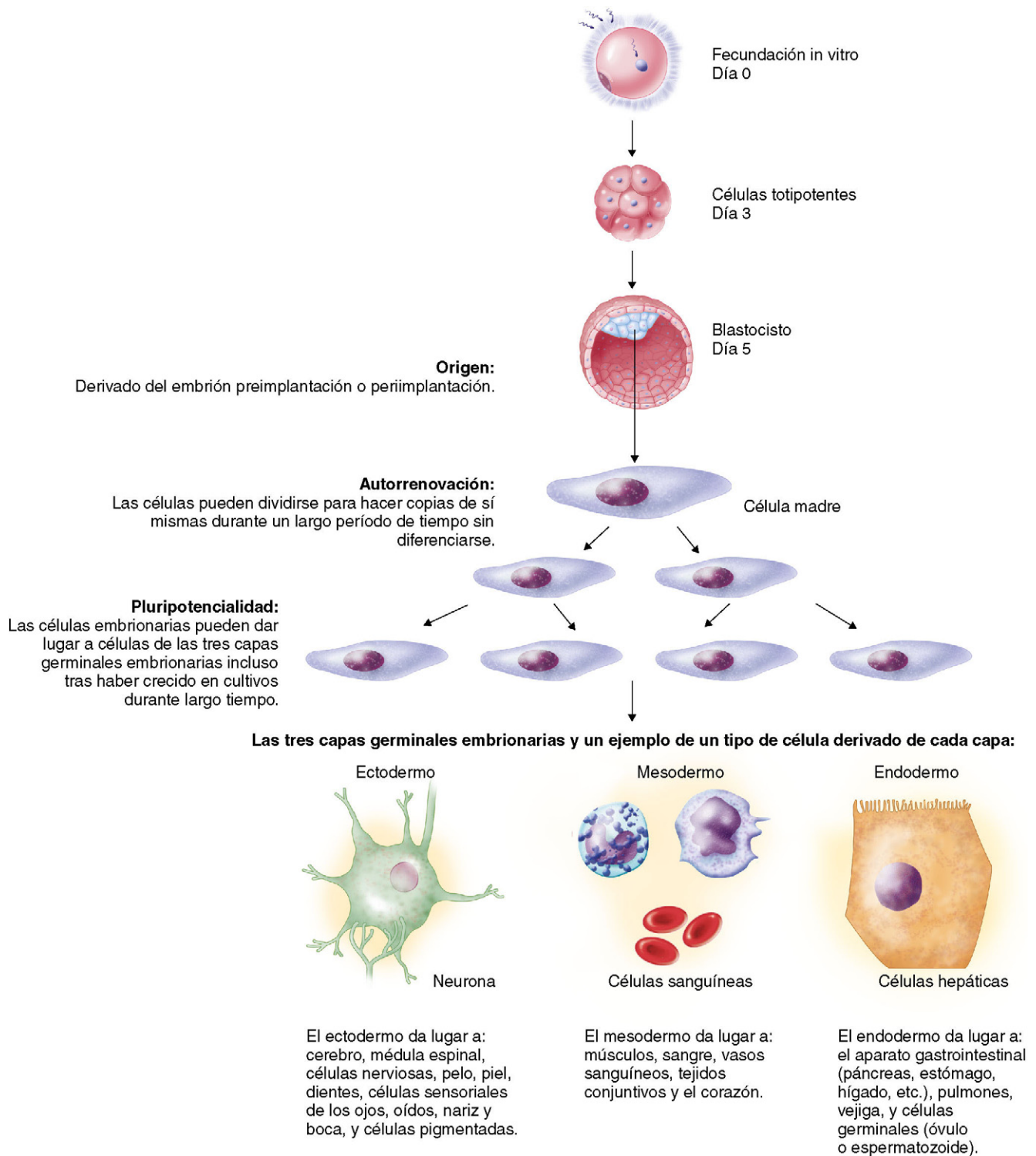


FIGURA 43-2. Células madre embrionarias. La *totipotencialidad* hace referencia a la capacidad de diferenciarse en todos los tipos de células de un organismo, incluidos los tejidos extraembrionarios, placenta, y cordón umbilical, una propiedad limitada al propio óvulo fecundado, incluidas las células derivadas de las primeras divisiones celulares tras la fecundación. La *pluripotencialidad* se refiere a la capacidad de diferenciarse en todos los tipos celulares especializados derivados de las tres capas germinales (ectodermo, mesodermo, endodermo) del embrión en desarrollo y es un sello característico de las células madre embrionarias y de las células germinales.

la enfermedad, el tratamiento prolongado sólo con agentes farmacológicos se asocia con refractariedad y complicaciones, y no logra detener la neurodegeneración subyacente. En la búsqueda de una terapia más definitiva, las primeras descripciones de terapia de sustitución celular sugerían una mejora significativa de la función motora después de la implantación intraestriada de tejido mesencefálico, obtenido de fetos humanos abortados a las 6-9 semanas tras la concepción. El tratamiento inmunosupresor a largo plazo es esencial para permitir que las neuronas dopaminérgicas trasplantadas se desarrollen hasta alcanzar su potencial funcional completo, a pesar del concepto de santuario inmunológico dentro del encéfalo. Los estándares de evaluación clínica han proporcionado indicios claros de la supervivencia duradera del injerto y del beneficio clínico después de la terapia con células de origen fetal, que

hasta ahora ha durado 10 años o más en algunos pacientes. Los avances adicionales se ven limitados por la falta de tejido de origen suficiente para tratar un gran número de pacientes afectados, por la variabilidad prohibitiva en el resultado funcional, por los informes de discinesias graves en un subgrupo de pacientes tratados, así como por los aspectos éticos.

Las investigaciones basadas en células madre para el tratamiento de otras enfermedades neurodegenerativas, incluida la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis lateral amiotrófica, el ictus y la lesión de la médula espinal, están actualmente en la fase de transición desde los estudios en modelos animales experimentales a la planificación de ensayos clínicos. Varias publicaciones recientes han mostrado un beneficio clínico significativo en modelos animales sobre la diferenciación y trasplante de CMEh hacia

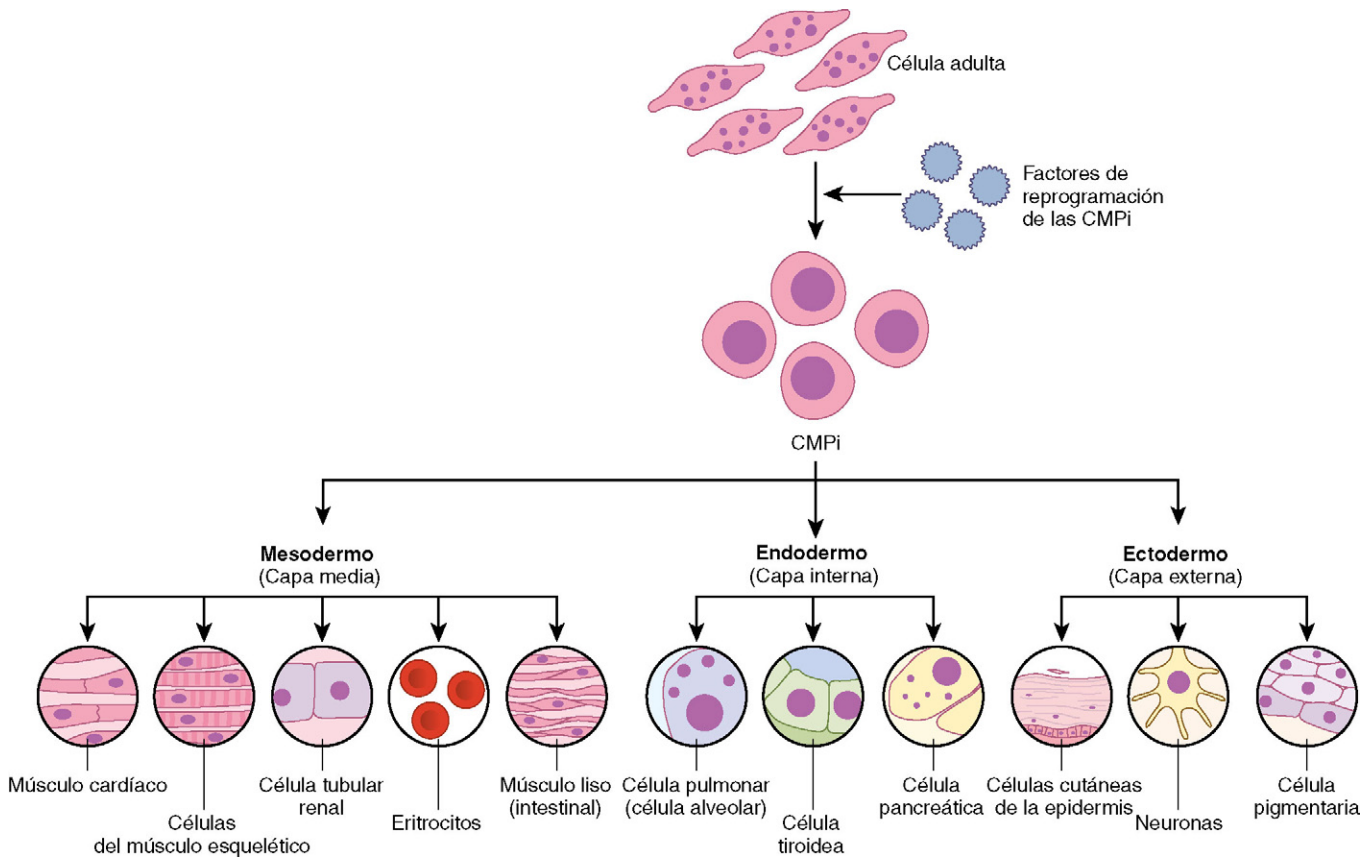


FIGURA 43-3. Células madre pluripotentes inducidas (CMPI). La introducción de tres factores de crecimiento y de una sustancia química que modifica la expresión génica es suficiente para restaurar la pluripotencia en las células somáticas adultas. (Adaptada de <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/stem-cell-biology/ipsc.html>.)

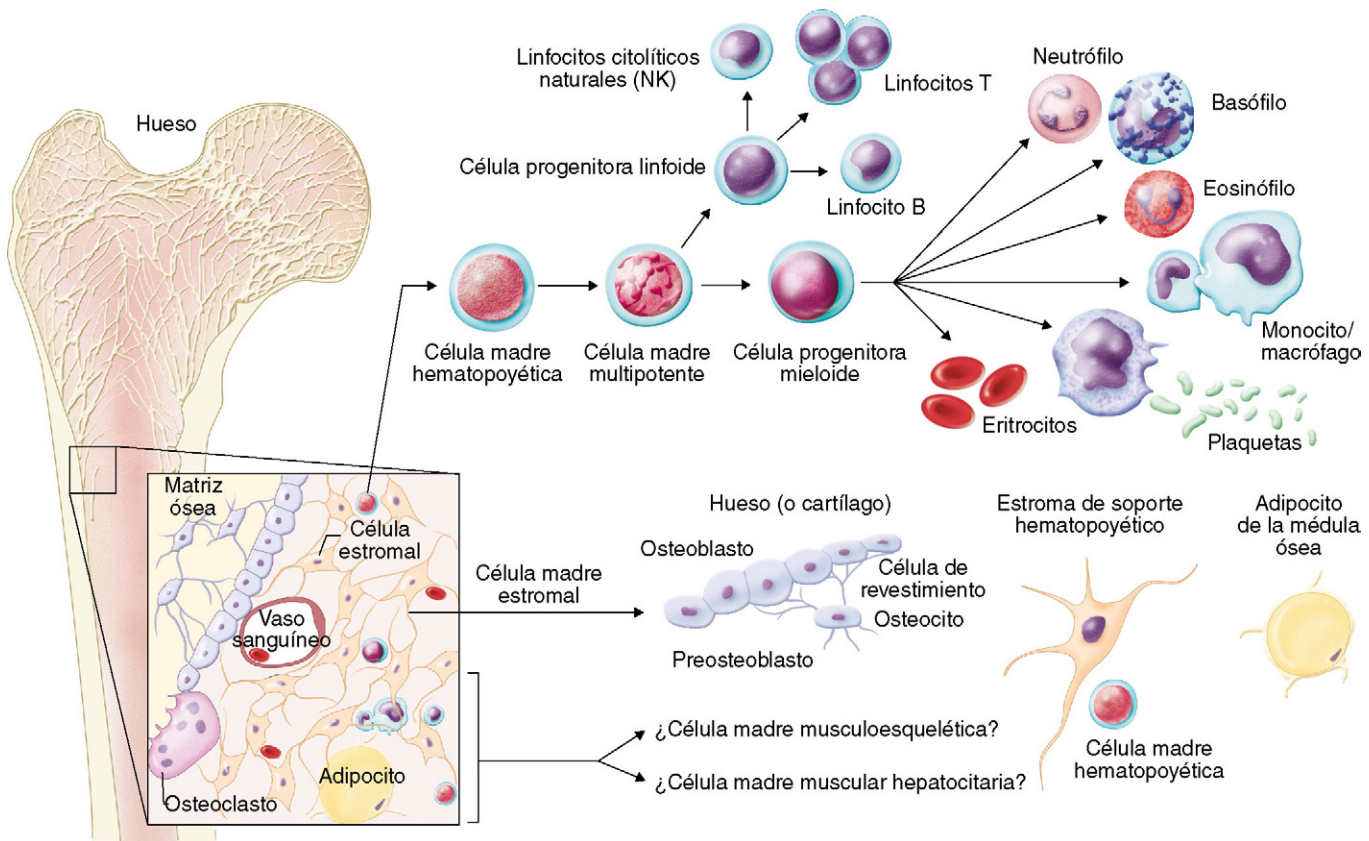


FIGURA 43-4. Células madre adultas. Las células madre adultas pueden ser multipotentes y tienen la capacidad de diferenciarse en un número limitado de distintos tipos celulares, a menudo restringidos a un tejido u órgano dado, como en el caso de las células madre adultas hematopoyéticas o epidérmicas. Se han aislado dos tipos de células madre en la médula ósea adulta: la célula madre hematopoyética y la célula madre mesenquimatosas. Las células madre mesenquimatosas adultas de origen en la médula ósea, aunque se ha visto que su rango de diferenciación es más amplio que el de otro tipo cualquiera de célula madre adulta, no llegan a la pluripotencialidad. Se cree que en algunos sistemas orgánicos, como el epitelio gastrointestinal, existe una reserva de progenitores unipotentes para repoblar un rápido recambio poblacional de un solo tipo de células, aunque es difícil estar seguro de que tales progenitores puedan distinguirse de la población general de células totalmente diferenciadas en tejidos con mayor recambio celular.

el epitelio pigmentario de la retina. Puede que los estudios con estas células en seres humanos comiencen pronto para los pacientes que presentan degeneración macular relacionada con la edad.

Distrofias musculares y otras alteraciones del sistema musculoesquelético

En las principales formas genéticas de distrofia muscular (cap. 429), se han desarrollado distintas estrategias con el fin de corregir el defecto genético, restablecer la expresión funcional del producto del gen que falta (p. ej., la distrofina) y, de este modo, ralentizar la progresión de la enfermedad. La implantación de células precursoras musculares miooblásticas podría permitir la repoblación mejorada de los músculos distróficos degenerativos en estos estados patológicos. Aunque se notificó un éxito inicial en la recolección de los mioblastos, no hubo ningún beneficio clínico debido a una respuesta inflamatoria que destruye la gran mayoría de los mioblastos inyectados. Además, el fracaso de los mioblastos para recorrer distancias significativas desde los lugares de inyección hace que no sea práctica la implantación por inyección directa con aguja en los trastornos de distrofia muscular aguda.

Se han ideado protocolos para el desarrollo de sustitutos biomecánicos mixtos para huesos, tendones, cartílagos y otros tejidos conjuntivos que incorporan o producen una matriz envolvente relevante. Es posible que en estas formas de terapia celular la estructura de tejido conjuntivo se pueda producir *in vitro* y después repoblarse con células endógenas del receptor en el paciente, con lo que así se previene potencialmente el rechazo inmunitario y otros problemas relacionados con la presencia de células de origen alogénico.

Cardiopatía

En la insuficiencia cardíaca (caps. 58 y 59), las limitaciones del tratamiento clínico han motivado la búsqueda de terapias basadas en células para restaurar o aumentar la función contráctil, o para restablecer los miocardiocitos en las regiones cardíacas lesionadas.

En ensayos clínicos, se ha demostrado que los mioblastos esqueléticos de origen autólogo crecen en tejido cardíaco cicatrizal después de su inyección intracardiaca directa. Sin embargo, no se ha visto ninguna evidencia histológica o funcional de acoplamiento eléctrico o mecánico. En la actualidad, la mayoría de los trabajos experimentales escogen una preparación de médula ósea y de células madre y progenitoras periféricas. En algunos casos, la diferenciación aparente de células de la médula ósea en fenotipos de miocitos cardíacos ha sido refutada con posterioridad. En cultivo celular, las CMEh son inducidas fácilmente a fenotipos de miocardiocitos, incluidas las siguientes características: contracción rítmica, marcadores de expresión génica y proteica para la diferenciación de miocardiocitos, acoplamiento eléctrico a través de las uniones comunicantes, respuesta a agentes cronotrópicos e inotrópicos, y acoplamiento con miocardiocitos heterotípicos derivados de otras fuentes. Se ha demostrado que los miocardiocitos de origen en las células madre embrionarias humanas sirven como marcapasos biológicos después de la ablación del sistema de conducción en animales experimentales. También se ha visto que aumentan la contractilidad cardíaca tras un infarto de miocardio inducido por la ligadura coronaria en animales experimentales. Para el tratamiento de las arritmias cardíacas refractarias, una combinación de terapia celular y génica implica la expresión estable de canales de conductancia de potasio o de otros iones en regiones con inestabilidad eléctrica del corazón mediante inyección endomiocárdica guiada. Un esfuerzo experimental destacado para usar células derivadas de la médula ósea mediante su administración intracoronaria pretende mejorar la función ventricular izquierda tras un infarto de miocardio agudo. La experiencia clínica con más de 1.000 pacientes que han recibido tratamiento con células madre indica que se logra un perfil favorable con una modesta mejora de la función cardíaca y una remodelación estructural en el contexto del infarto de miocardio agudo o de la insuficiencia cardíaca crónica. La administración muscular intracardiaca directa se asociaba con más frecuencia a grados menores de mejora y, en ocasiones, a arritmias.

Diabetes mellitus

Se ha demostrado que el trasplante pancreático con éxito y los protocolos mejorados sin corticoides para el trasplante de islotes de Langerhans no solo restauran el control de glucosa en pacientes con diabetes mellitus, sino que también previenen, o incluso revierten, algunas de las complicaciones de la enfermedad (caps. 236 y 237). Sin embargo, los tratamientos basados en trasplantes del órgano entero o de islotes están limitados por el rechazo inmunológico y por la limitación de una fuente disponible de tejidos trasplantables. Por ello, se ha intensificado la búsqueda de tipos celulares que puedan reemplazar (diabetes mellitus tipo 1) o aumentar (diabetes mellitus tipo 2) la función deficiente de las células β . Aunque no se ha informado de ninguna aplicación clínica, sí ha habido un progreso significativo con las células de origen humano evaluadas en cultivos celulares y en modelos animales. Las estrategias que se han seguido incluyen la reprogramación durante el desarrollo de las células hepáticas a lo largo de la diferenciación de la estirpe pancreática endocrina para dotarlas de la

maquinaria apropiada para la liberación de insulina mediada por glucosa. También se han establecido protocolos para la diferenciación de las CMEh en un precursor o en un fenotipo maduro de células β . Debido a que la patogenia de la diabetes mellitus tipo 1 implica la destrucción autoinmunitaria de las células de los islotes pancreáticos, las células β derivadas de fuentes autólogas, como las propias CMPi del paciente, podrían convertirse también en una diana para los procesos destructivos autoinmunitarios, a no ser que se tomasen medidas preventivas. Además, dado que los sistemas de monitorización de la glucosa y de aporte de insulina están mejorando constantemente, cualquier enfoque basado en la terapia celular debe proporcionar una ventaja clara sobre las modalidades terapéuticas existentes, a la vez que cumplen los más rigurosos estándares de seguridad para el paciente.

Plataformas derivadas de células madre en el descubrimiento de genes y fármacos

Además de la generación de células para aplicaciones regenerativas, la capacidad de hacer crecer una amplia variedad de distintos tipos de células especializadas de origen humano en cultivo proporciona oportunidades incomparables para el descubrimiento y pruebas de genes y fármacos. Por ejemplo, la posibilidad de hacer crecer miocardiocitos humanos en cultivo supone una plataforma experimental preclínica, basada en células humanas, para el cribado de fármacos de nuevo desarrollo en cuanto a su capacidad de prolongar el intervalo QT y, por tanto, el riesgo de inducir arritmia en el ámbito clínico. Otros ejemplos son la creación de un microambiente tisular experimental de origen humano para estudiar la respuesta estromal al crecimiento del tumor y para probar fármacos antioncológicos dirigidos a las respuestas de oncogénesis, como la angiogénesis. La combinación de tecnologías, como el ARN de interferencia (ARNi), con el crecimiento y tecnología de las células madre humanas (e-Fig. 43-1) posibilitará descubrir el papel de ciertos productos génicos en las vías bioquímicas y las respuestas celulares en la terapia génica.

Consideraciones sociales, éticas y legales en la investigación y terapia con células madre

En el campo de la investigación y terapia con células madre, tanto en los países como entre las organizaciones políticas y religiosas, han surgido preocupaciones sociales, éticas y legales sobre la definición del concepto de persona antes del nacimiento. Aunque existe un amplio consenso sobre la completa inviolabilidad de la persona y sobre que los derechos asociados deben ser acordados a cada individuo desde, al menos, el momento del nacimiento, no se aplica el mismo consenso a la condición de un individuo antes del nacimiento. En todo el mundo se han desarrollado varias directrices para la investigación basadas en los hitos del desarrollo embrionario. Bioéticos y legisladores se preocupan a menudo por la posibilidad de que los investigadores científicos y clínicos vayan más allá de las actividades permisibles y entren en dominios prohibidos. Los temores previos sobre la clonación terapéutica, en la que el primer paso es la transferencia nuclear somática a un ovocito, o sustitución del núcleo haploide de un ovocito recolectado por un núcleo diploide derivado de la célula somática de un potencial receptor de terapia celular, se basaban sobre todo en el miedo de que esto fuese una pendiente escorrida hacia la clonación reproductiva. Sin embargo, la producción satisfactoria de CMPi ha suplantado en su mayor parte a los incentivos para la transferencia nuclear somática a ovocitos. El discurso civil continuo y las estrictas directrices regulatorias para garantizar la seguridad del paciente en los ensayos clínicos seguirán siendo claves para resolver los dilemas bioéticos y las preocupaciones sociales suscitadas por las células madre y las tecnologías biomédicas emergentes relacionadas.

TERAPIA GÉNICA

La utilización de genes como plataformas terapéuticas surgió durante la mitad del siglo XX, y en la década de 1990 se llevaron a cabo los primeros estudios regulados registrados en Estados Unidos. Desde entonces, se han tratado más de 10.000 pacientes en más de 1.000 estudios, en 15 países a lo largo de todos los continentes, con varias modalidades de terapia génica para una variedad de enfermedades. Se han realizado alrededor de 50 estudios para rastrear el aporte de genes y más de 1.000 de evaluación terapéutica. Cien estudios eran sobre enfermedades monogénicas y 1.000 sobre cáncer, que es también la categoría de enfermedad más común para los estudios de terapia génica en el mundo. En la actualidad, se dispone en el mercado de dos agentes terapéuticos génicos. El formivirsen se emplea para el tratamiento de la retinitis por citomegalovirus (cap. 384) en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). La secuencia codificadora del supresor tumoral p53 en un vector adenovirus se emplea para el tratamiento de pacientes con cáncer de cabeza y cuello y solo está registrada en China. A la mayoría de los pacientes que participaron en los primeros ensayos de terapia génica se les administraron genes marcadores o informadores en vez de los genes terapéuticos actuales. De los miles que fueron tratados, dos muertes se han atribuido directamente a la terapia génica. Las estadísticas de mortalidad atribuidas a la terapia génica son muy bajas cuando se las compara con las terapias asociadas a la quimioterapia y el trasplante, dos modalidades terapéuticas que hoy

en día se emplean con frecuencia en la práctica clínica para enfermedades que son objetivo de la terapia génica.

Material genético

La carga terapéutica (el núcleo de cada fármaco de la terapia génica) está compuesta en la mayoría de los casos por un cassette de expresión. Los objetivos clínicos esenciales de la terapia génica se basan en controlar la expresión génica mediante la regulación de un promotor de la expresión específico de tejido. A pesar de que se han desarrollado unos pocos sistemas en el ámbito experimental, ninguno ha recibido aún la aprobación para su uso clínico por parte de la Food and Drug Administration estadounidense, aparte de la expresión de *p53* en los tumores de cabeza y cuello por las autoridades reguladoras en China.

Métodos de aplicación de terapia génica

Con frecuencia, dos elementos componen los agentes de terapia génica: el material genético y el sistema de aplicación. Por lo general, el último es el componente más complejo y limitante, y es esencial seleccionar el método de aplicación más eficiente para cualquier terapia génica. Por desgracia, muchos métodos de aplicación de terapia génica se asocian con posibles efectos adversos, por lo que se requiere adaptar la terapia a las consideraciones clínicas especiales. El sistema de aplicación que más se utiliza ha empleado enfoques basados en retrovirus y adenovirus. Los enfoques basados en virus aprovechan el hecho de que los virus han sido diseñados a lo largo de la evolución para actuar como sistemas de entrega de material genético. Sin embargo, por cada vector génico específico basado en virus ha habido inconvenientes significativos que deben sopesarse frente a los beneficios terapéuticos potenciales. Los métodos no virales también se han empleado en muchos estudios. Los métodos de aplicación no virales más usados implican el empleo de ADN desnudo/plasmídico y la aplicación por medio de liposomas. En la terapia génica del cáncer, se puede utilizar la respuesta inmunitaria frente al vehículo de aplicación que lleva el material genético antioncológico empleándola como un adyuvante. Sin embargo, en estados de enfermedad monogénica, sería preferible que el sistema de aplicación de un gen que debe expresarse durante un tiempo prolongado a fin de reemplazar o aumentar un producto génico deficitario fuera ignorado por el sistema inmunitario.

ADN desnudo/plasmídico

En teoría, la estrategia más directa de terapia génica sería la introducción de material génico, como una molécula complementaria, un ARN de interferencia corto (ARNsi), o un cassette de expresión, directamente en el compartimento celular diana (p. ej., el ADN en el núcleo o el ARN en el citoplasma). Sin embargo, en la práctica clínica esto no es eficiente. La administración sistémica de ADN desnudo en el torrente sanguíneo acaba, por lo general, en la pérdida del material genético aplicado, en interacciones inespecíficas con proteínas del suero y en la degradación activa mediada por el sistema inmunitario innato (p. ej., los macrófagos tisulares). La administración directa o aplicación en órganos diana o tejidos puede evitar algunos de estos problemas, pero también deben superarse ciertas barreras. Cuando la carga es el cassette de expresión de ADN, necesitará interactuar con la membrana celular y atravesarla, escapar del compartimento endosómico y de la degradación citosólica por nucleasas, y atravesar los poros nucleares para alcanzar el núcleo celular. Éste es un largo proceso propenso a fracasar a no ser que esté sustentado por medios adicionales que permitan al ADN pasar las barreras celulares. La electroporación es un método que ha sido aplicado a compartimentos o masas corporales bien circunscritas, como el músculo, la piel y los tumores. Los pacientes tratados con electroporación han sufrido lesión tisular y dolor asociado. También se han desarrollado métodos adicionales para la administración de ADN desnudo, como los diferentes tipos de pistolas génicas empleadas para la vacunación con ADN y la energía de los ultrasonidos para la transducción de células endoteliales, que podrían emplearse para aplicaciones cardiovasculares y contra la angiogénesis tumoral.

El ADN desnudo se ha formulado también como parte de las estrategias de vacunación con ADN para el tratamiento del cáncer y enfermedades inmunitarias o infecciosas. Aunque los estudios preclínicos son prometedores, todavía no se ha logrado la extrapolación con éxito al ámbito clínico.

Vectores no virales

Se han diseñado vectores no virales para superar la barrera de la membrana celular y, en algunos casos, la compartimentación intracitoplasmática del material genético administrado. Estos vectores no virales son eficientes a la hora de aumentar la penetración in vitro de la membrana; sin embargo, su eficiencia *in vivo* es mucho menor. Los sistemas de entrega no virales tienen ventajas adicionales: son baratos y pueden transportar grandes moléculas de ADN y su estructura se puede modificar para satisfacer necesidades específicas, como la conjugación de pequeños péptidos para dirigir el tratamiento. Después de su administración sistémica y, en algunos casos local, estos vectores no virales estimulan la respuesta inmunitaria innata al actuar

como adyuvantes. Interaccionan con las proteínas del suero y con células que no eran dianas escogidas, así como con la matriz extracelular. Una vez que el ADN alcanza el núcleo, está sujeto a ser silenciado. Después de la división celular se reduce significativamente la expresión. En la actualidad, los vectores no virales se emplean en casos específicos seleccionados. La aplicación local y sistémica de sistemas de transporte no viral podría inducir efectos inmunitarios recíprocos con una respuesta clínica inflamatoria no deseada.

Adenovirus como vectores virales

El adenovirus es un virus de ADN sin envoltura, con capacidad para transportar una carga genética grande. Los adenovirus, así como los adenovectores (el vector basado en virus), transducen células que no se dividen, una propiedad que es importante para la terapia génica en muchos tipos celulares, como los hepatocitos (<0,1% de hepatocitos se están replicando en los seres humanos en cualquier momento dado). Estos vectores se han modificado para evitar su replicación en tejidos sanos. Los adenovectores sin capacidad de replicación (RD, del inglés *replication-defective*) se emplean para la expresión a corto plazo. Las modificaciones adicionales del genoma viral y el sistema celular que soporta la producción de las partículas virales han posibilitado la eliminación de todas las secuencias virales de codificación, convirtiéndose así en un vector «vaciado» (adenovector dependiente de colaborador [HD, del inglés *helper-dependent*]). Es posible clonar los genes terapéuticos en el adenovirus RD y generar adenovectores en un tiempo relativamente corto. Una ventaja adicional de los adenovectores es que el sistema de producción, que es relativamente simple, permite la generación de una concentración muy alta. Las concentraciones virales altas son esenciales cuando la administración es parenteral o cuando se necesita producir una gran cantidad de una proteína dada, como en los estados de enfermedad en los que la secreción de una proteína está deteriorada y cada célula necesita codificar su propia proteína normal. Los adenovectores HD, que no albergan genes codificados por virus, son capaces de soportar la expresión transgénica durante meses y posiblemente durante más de un año. Las células transducidas con adenovectores RD expresan proteínas virales e inducen una respuesta inmunitaria. Por tanto, se emplean en casos clínicos en los que se necesita expresar el gen terapéutico a altos niveles durante un corto periodo de tiempo. La administración sistémica de concentraciones elevadas de adenovectores podría asociarse con efectos adversos graves, como la coagulopatía intravascular diseminada (cap. 178).

Vectores retrovirales

Los vectores retrovirales son un grupo de virus de ARN que albergan dos copias genómicas de ARN en cada partícula viral, que consta de una cápside rodeada por una envoltura. Para las aplicaciones de terapia génica, se han modificado dos grupos de virus para la evaluación y el uso clínico: los oncorretrovirus y los lentivirus. Los vectores generados de ambos grupos han entrado ya en la fase de evaluación clínica.

Vectores gammaretrovirales

Los vectores gammaretrovirales derivan de diferentes gammaretrovirus, como el virus de la leucemia murina y el virus de la leucemia murina de Moloney. Los virus RD se producen en células empaquetadoras especiales que proporcionan todos los componentes esenciales en *trans* para la replicación viral y proteínas estructurales. El vector de la terapia génica viral está compuesto por: 1) el genoma sin ninguna secuencia viral codificada responsable de la producción de proteínas virales, 2) la carga genética terapéutica y los componentes estructurales, y 3) la cápside y la envoltura. Estos vectores virales pueden transportar cargas transgénicas de hasta 8 kilobases (kb) de longitud. Los vectores retrovirales sólo pueden transducir las células en división. Si el ADN llega al núcleo, se puede producir la integración del genoma viral en el cromosoma de la célula huésped y llevar a una expresión transgénica estable y duradera. En su grado máximo, ocurre una integración por multiplicidad de infección (MDI) en numerosos lugares. Por tanto, si se requiere la corrección a largo plazo de una alteración genética, primero hay que inducir la replicación de las células diana. La integración es un hecho aleatorio, de manera preferente dentro de una ventana de nucleótidos de 5 kb aproximadamente alrededor del lugar de iniciación de la transcripción. Por consiguiente, existe la preocupación de que ocurra una interferencia con la función celular normal, incluidas la activación de oncogenes o la ruptura de los genes de supresión tumoral. Estos hechos ya se han producido y han provocado el desarrollo de transformaciones malignas en modelos animales (roedores y primates) y en seres humanos. Hay evidencia de que las células «jóvenes» del sistema hematopoyético y los hepatocitos son más susceptibles a la transformación maligna que las células al final de su proceso de diferenciación. Por otro lado, la selectividad de las células en división es ventajosa si el objetivo es aportar un gen de una toxina a un tumor en crecimiento rodeado por parénquima quiescente normal. La producción de vectores retrovirales es menos eficiente que la de los adenovectores. Como resultado, en la mayoría de los casos la aplicación de retrovirus no se realiza por administración sistémica, sino por inyección *ex vivo* o directa en el tejido normal o tumoral.

Vectores lentivirales

Este grupo de virus ha sido desarrollado más recientemente para aplicaciones de terapia génica. El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y los virus de la inmunodeficiencia del felino, el simio o el equino son miembros de la familia de los lentivirus que fueron convertidos a lentivectores para la terapia génica. A estos vectores se les priva de las secuencias genómicas estructurales y de la mayoría de las no estructurales y accesorias que se proporcionan en *trans* en la línea de células empaquetadoras para la producción de vectores. Además, la glucoproteína de la envoltura no es de origen lentiviral y, por medidas de seguridad, se inactiva el origen de la replicación para generar un vector que se autoinactiva. Todas estas manipulaciones genómicas se han introducido para mejorar la seguridad del lentivector y para hacer posible una gran capacidad de clonación de hasta 8 kb. Estos lentivectores se han aplicado sólo en unos pocos estudios de terapia génica, principalmente para el tratamiento de pacientes con SIDA. Sin embargo, están en marcha estudios adicionales que utilizan sistemas de entrega basados en lentivirus en pacientes con hemoglobinopatías, la enfermedad de Parkinson, la adrenoleucodistrofia ligada al X y otras enfermedades genéticas y degenerativas, con resultados prometedores. No se conoce el riesgo a largo plazo del uso de vectores retrovirales, como los vectores gammaretrovirales y lentivirales. El posible desarrollo de dominancia clonal, transformación y cáncer en el caso de la transducción de células madre por retrovirus se está monitorizando adecuadamente en todos los estudios registrados de forma correcta.

Virus asociado a adenovirus

El virus asociado a adenovirus (VAA) es un parvovirus humano de ADN monocatenario sin envoltura y no patógeno. Los vectores virales se han derivado de varios serotipos, que presentan distinto tropismo tisular y celular. La capacidad de los vectores VAA es menor, lo que supone una limitación importante para algunas estrategias de terapia génica con estos vectores. La capacidad para lograr concentraciones altas (10^{12} unidades de transducción por mililitro) de serotipos VAA posibilita realizar inyecciones sistémicas con MOI razonables en células/tejidos diana. Unas ventajas adicionales de los vectores VAA son que transducen células que no están en división y que no se integran en el genoma de la célula diana. El sistema inmunitario innato detecta el VAA y responde a él, y los anticuerpos generados contra la cápside viral tras una sola inyección atenúan el efecto de una segunda administración del vector VAA. La expresión a largo plazo se detecta con el uso de vectores VAA. Los estudios clínicos de fase I a III han evaluado el vector VAA para enfermedades genéticas, virales, inflamatorias, degenerativas y neoplásicas. Un estudio con factor IX de la coagulación en VAA ha demostrado su eficacia a corto plazo debido al desarrollo de un ataque inmunitario contra los hepatocitos transducidos. Varios estudios llevados a cabo tanto en Europa como en Estados Unidos han mostrado un beneficio a largo plazo para los pacientes con amaurosis congénita de Leber tratada mediante la administración subretiniana de VAA para expresar la proteína de 65 kD específica del epitelio pigmentado retiniano (RPE65). También se ha descrito el éxito del tratamiento en la enfermedad de Parkinson. Además, después de más de 2 años de seguimiento no se ha demostrado la existencia de efectos secundarios significativos.

Vectores derivados de virus especiales

Además de los vectores adenovirales, retrovirales y VAA, a lo largo de los 10 últimos años se han desarrollado numerosos vectores basados en virus más especializados, con propiedades y objetivos clínicos interesantes.

El virus herpes simple tipo 1 (VHS-1) es un virus de ADN que puede manipularse para convertirse en RD y contener una gran cantidad de ADN ajeno para la aplicación de genes. La expresión de la carga transgénica es transitoria. El amplicón del VHS-1 se ha utilizado en numerosos ensayos clínicos de terapia génica para las enfermedades neurológicas.

Recientemente se han desarrollado partículas parecidas a virus (PPV) para vacunas o terapia génica. Las PPV del virus del papiloma humano se han empleado como partículas vacías para la vacunación contra el cáncer del cuello uterino con un éxito significativo. Los virus del mismo grupo, incluido el SV40, que es también un virus de ADN, se utilizan para la generación de PPV para llevar cargas de terapia génica. Una ventaja del SV40 es la baja respuesta inmunitaria contra el virus. Una vez más, unas barreras similares ralentizarán el desarrollo de estos vehículos, como la limitación de las concentraciones y la capacidad de producción.

El virus vaccinia recombinante (VVr) se desarrolló inicialmente para la expresión de proteínas en tejidos transducidos. Los estudios clínicos en esta línea han obtenido un éxito limitado. Sin embargo, el reciente desarrollo de VVr para el tratamiento de enfermedades malignas a través de la expresión de antígenos podría aportar un beneficio clínico.

Virus oncolíticos

Los virus oncolíticos se replican en las células tumorales e inducen un efecto citopático o destruyen células tumorales por otros medios, como la inducción de apoptosis. El

obstáculo principal al que se enfrenta el desarrollo actual de fármacos antitumorales no es su potencia, sino más bien su baja selectividad de las células tumorales. Una alta selectividad terapéutica es esencial para hacer posible una ventana terapéutica segura. La viroterapia tiene esas propiedades, pero estos virus todavía han de demostrar su eficacia clínica. Los virus oncolíticos dirigidos contra tumores se componen de dos grupos. Los virus modificados por ingeniería genética están diseñados para replicarse de manera preferente en células tumorales. Este grupo incluye adenovirus que pueden replicarse sólo en presencia de un gen supresor tumoral no activo, como p53 o Rb. Estos últimos virus se replicarán de manera selectiva en las células tumorales e inducirán su destrucción. Los virus VHS-1 y VVr modificados por ingeniería pueden incluirse también en este grupo. El segundo grupo está formado por virus con una selectividad antitumoral intrínseca en los que se ha observado la existencia de efectos antitumorales a través de una expresión proteica específica (reovirus) o mediante virus que activan la respuesta inmunitaria innata o adaptativa contra el tumor, como el virus de la enfermedad de Newcastle, las cepas del virus del sarampión, el virus Sindbis, el poliovirus y el virus de la estomatitis vesicular. El fundamento para el uso de los reovirus como enfoque viroterapéutico contra el cáncer se basa en la observación de que la infección por el reovirus activa las proteínas cinasas del huésped para detener la producción de proteínas, una protección esencial contra la infección. Se sabe que la señal Ras activada interfiere con la activación de la proteína cinasa y con su señalización tras la infección por el reovirus. Esto permite al reovirus continuar replicándose en células tumorales y preservar los tejidos normales. Esta replicación induce un efecto citopático específico en las células malignas. Los virus modificados por ingeniería genética y los virus con selectividad antitumoral intrínseca han sido probados en ensayos clínicos iniciales y están a la espera de estudios para determinar su efectividad en tipos de cáncer específicos. La viroterapia, en combinación con la quimioterapia estándar, puede aumentar más la actividad antitumoral de la viroterapia oncolítica de un modo sinérgico.

Enfermedades tratadas por terapia génica

Inmunodeficiencia heredada

Se han documentado más de 30 pacientes en todo el mundo que han recibido tratamiento con diferentes vectores retrovirales para inmunodeficiencias heredadas (cap. 258). En este grupo se incluyen pacientes con una de las siguientes tres enfermedades: dos tipos de inmunodeficiencia combinada grave (IDCG), caracterizados ambos por la desregulación del desarrollo de los linfocitos, y la enfermedad granulomatosa crónica ligada al X (EGC-X), una inmunodeficiencia heredada en la que falta la actividad de la dinucleótido de nicotinamida-adenina fosfato reducido (NADPH) oxidasa de los fagocitos, debido a mutaciones en el gen *gp91 (phox)*. Los pacientes con IDCG por déficit de adenosina desaminasa (ADA) sufren la muerte prematura de los linfocitos T, B y citolíticos naturales (NK) como resultado de la acumulación de metabolitos de purina; los pacientes con esta afección han sido tratados con vectores que expresan el gen *ADA*. En los primeros pacientes con IDCG por déficit de ADA, se observó que los linfocitos T transducidos que expresan *ADA* transgénico persisten más de 10 años; sin embargo, el efecto terapéutico de la terapia génica produjo una corrección incompleta del defecto metabólico. Más recientemente, un protocolo mejorado de transferencia génica de las células CD34⁺ de la médula ósea combinada con bajas dosis de busulfán produjo un prendimiento estable multilínea de progenitores transducidos con niveles sustanciales, la restauración de la función inmunitaria, la corrección del defecto metabólico del gen *ADA* y un beneficio clínico probado. En conjunto, no se han observado efectos adversos o toxicidad en pacientes tratados con transferencia del gen *ADA* en linfocitos maduros o progenitores hematopoyéticos.

Se ha demostrado que el tipo ligado al X (grupo IDCG-X), en el que existe una señalización defectiva de supervivencia dependiente de citocina en los linfocitos T y NK, se corregía con la introducción de la secuencia de tipo salvaje de la cadena común γ , que es un componente esencial de cinco receptores de citocinas. En un estudio clínico, se desarrollaron neoplasias malignas hematológicas en cuatro pacientes. Uno de ellos falleció a consecuencia de esta complicación. En un grupo de 10 pacientes tratados con un protocolo diferente de transducción viral la terapia tuvo éxito, con una única neoplasia maligna en 8 años de seguimiento. Dos pacientes adultos con EGC-X que sufrían infecciones bacterianas recidivantes han sido tratados con células CD34⁺ transducidas con un vector gammaretroviral que expresa *gp91 phox*, presentando una mejoría clínica significativa a corto plazo. Sin embargo, en ambos pacientes hubo una expansión de células transducidas con genes provocada por la activación transcripcional de los genes promotores del crecimiento que causaba una mielodisplasia y una pérdida gradual de la eficacia.

En resumen, de los cerca de 30 pacientes que han recibido en todo el mundo terapia génica por inmunodeficiencias, se ha observado una mejoría clínica significativa en muchos. Sin embargo, se han encontrado consecuencias adversas graves e incluso potencialmente mortales con algunos vectores virales y protocolos. Será esencial obtener información clínica adicional de la observación a largo plazo y de nuevos estudios clínicos para evaluar con más claridad el beneficio clínico.

Enfermedades hematológicas

En los últimos años, otras enfermedades hereditarias han sido tratadas con terapia génica, entre las que había sobre todo afecciones hematológicas en las que una pequeña cantidad de una proteína secretada podría revertir el fenotipo clínico, y se ha obtenido un éxito parcial en varios trastornos hemorrágicos hereditarios. Sin embargo, por lo general la respuesta no se ha mantenido o se ha acompañado de reacciones adversas, como el aumento de las enzimas hepáticas en el caso de administración a través de la arteria hepática.

Enfermedades cardiovasculares y pulmonares

Los síndromes cardiovasculares más comunes están relacionados con la enfermedad arterial oclusiva arteriosclerótica. Para superar las oclusiones arteriales, sobre todo cuando las terapias convencionales no logran mejorar el aporte de sangre a órganos isquémicos, se ha recomendado la angiogénesis terapéutica como posible tratamiento. En pacientes con enfermedad coronaria y arterial periférica, se han hecho pruebas sobre la transferencia de genes que codifican factores de crecimiento angiogénicos (factor de crecimiento endotelial vascular y fibroblástico) transportados por vectores virales y no virales en estudios de fase II y III.

Fibrosis quística

Desde 1990, se han aplicado protocolos experimentales de terapia génica para la FQ (cap. 89). La proteína denominada regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CTFR) está mutada en pacientes con FQ. Es potencialmente factible transducir el epitelio nasal y del árbol bronquial mediante estrategias no sistémicas. Se han desarrollado métodos de terapia génica no virales que aportan una copia del gen *CTFR* a la vía aérea de pacientes con FQ. Varios ensayos clínicos controlados con placebo de la transferencia del gen *CTFR* mediada por liposomas al epitelio nasal han confirmado su seguridad y han demostrado grados variables de corrección funcional¹. Además, varios estudios clínicos han evaluado el potencial de los retrovectores, los adenovectores y los vectores VAA para la terapia génica de la FQ^{2,3}. Con ambos sistemas de transporte, el viral y el no viral, sólo hubo leves efectos secundarios. Sin embargo, el beneficio clínico a largo plazo ha sido marginal. Se están evaluando vectores mejorados en estudios preclínicos.

Cáncer

Las estrategias de terapia génica para el tratamiento del cáncer se han basado en la alteración de las vías del proceso de oncogénesis (cap. 185), lo cual ha llevado a diversos métodos de terapia génica antioncológica.

Expresión específica del tumor de proteínas anticáncer

Algunos promotores se activan en muchos tipos de tumores (p. ej., la telomerasa humana o survivina), mientras otros se activan en tipos específicos de tumores (la probasina en el cáncer de próstata, la ceruloplasmina en el cáncer ovárico, el HER2 en el cáncer de mama, y el antígeno carcinoembrionario en el cáncer de colon). Dirigir el tratamiento hacia promotores específicos de tumores constituye una base racional para la terapia antioncológica, que puede caer en diferentes categorías, incluidas las proteínas celulares que están implicadas en la apoptosis o en la antiproliferación, o en ambas (p. ej., p53, Fas, p202, E1A y BAX). Su expresión induce una destrucción específica del tumor. El fármaco de terapia génica clínicamente más avanzado contra el cáncer es el adenovector RD, que expresa el gen humano p53. Esta terapia (Gendicina) está aprobada en China para el tratamiento de pacientes con carcinomas epidermoide de cabeza y cuello mediante administración directa en lecho tumoral. De acuerdo con los resultados obtenidos de China⁴ y con los estudios de fase III en Estados Unidos, este tratamiento consigue beneficios terapéuticos. Además, el uso de genes suicida es una de las estrategias más prometedoras para la terapia génica del cáncer.

Vacunas de ADN

En los últimos años, se han llevado a cabo ensayos clínicos humanos que emplean vacunas de ADN contra el cáncer (así como contra enfermedades infecciosas). A pesar de que estos estudios han demostrado de manera constante la seguridad de dichas vacunas de ADN, las respuestas inmunológicas resultantes no han sido alentadoras, incluidas la falta o baja respuesta de anticuerpos detectada en la mayoría de los casos y la respuesta celular algo débil en algunos ensayos. También se han notificado resultados decepcionantes con el uso de las vacunas de ADN contra el VIH y otros agentes infecciosos. Sin embargo, en la actualidad se están evaluando nuevos métodos para la vacunación con ADN, como la electroporación y nuevas generaciones de pistolas génicas. El silenciamiento génico tumoral se ha utilizado en muchos estudios clínicos diferentes. Este método implica el uso de oligonucleótidos complementarios (OC) para actuar sobre los genes implicados en la progresión del cáncer. Los OC inhiben la traducción a través de un mecanismo que supone la formación de un dúplex ARNm-OC, que provoca la escisión del ARNm diana mediada por la RNasa-H. La falta de eficacia clínica para algunas de las primeras

generaciones de OC es decepcionante, lo que indica que todavía hay que afrontar y superar varias dificultades.

ARN de interferencia

El ARN de interferencia (ARNi) regula la expresión génica a través de un mecanismo preciso de silenciamiento génico dirigido por secuencia a nivel de la traducción, debido a la degradación de ARN mensajeros específicos o por el bloqueo de su traducción a proteínas. La investigación en el uso de ARNi para las aplicaciones terapéuticas ha logrado un auge considerable. Se ha sugerido que muchas de las nuevas dianas asociadas a enfermedades que se han identificado son susceptibles de bloqueo con fármacos tradicionales de molécula pequeña y pueden tratarse con ARNi. En los próximos años, el concepto de ARNi se traducirá de forma activa en una opción terapéutica. En la actualidad, se están realizando muchos ensayos clínicos de fase I y II. Se están desarrollando estrategias locales y sistémicas de aplicación.

Ética y regulación de la terapia génica

Existen importantes diferencias en los temas éticos referentes a la terapia génica de células somáticas en contraposición con la de la línea germinal. En la mayoría de los países, la terapia génica de línea germinal, dado su posible efecto en generaciones futuras, es ilegal. Nuestro limitado conocimiento de las complejas interacciones que han configurado la evolución humana, junto con las consideraciones sociales y culturales, imposibilitan concebir programas responsables para modificaciones genéticas de la línea germinal en el ser humano, así como las estrategias de terapia génica de línea germinal. Sin embargo, la terapia génica se alienta y se realiza en el mundo entero bajo una estricta autoridad reguladora, con una congruencia destacable en cuanto a las directrices en diferentes países y organizaciones globales. La idea de que las terapias génicas constituyen fármacos biológicos nuevos supone un marco apropiado para la vigilancia por parte de los organismos reguladores.

Perspectivas futuras

En los últimos años, la carga genética/transgenes y los sistemas de administración de genes han experimentado grandes mejoras. Los rápidos progresos en el conocimiento de los soportes moleculares de los procesos patogénicos han facilitado su traducción a nuevas terapias basadas en la biología, incluidas las estrategias de terapia génica. Los principales avances en estos últimos años se han producido en el diseño de nuevos tipos de transgenes. El descubrimiento del ARNi (v. e-Fig. 43-1) y la biogénesis y el papel potencial del ARNs, incluida su aparente eficiencia en el silenciamiento de la expresión génica, sugiere que estos avances revolucionarán la terapia génica en los años venideros. Las infecciones virales todavía suponen una amenaza principal para la humanidad. Debido a que los virus están desarrollando resistencia contra las terapias actuales disponibles, hay una batalla en marcha entre los virus y nuestra capacidad para desarrollar nuevas estrategias para combatirlos. Los experimentos *in vitro* e *in vivo* demuestran la efectividad del ARNi en la inhibición de muchos virus que pueden causar problemas de salud y económicos serios, como el virus respiratorio sincitial, el de la hepatitis C y el de la gripe.

La trágica aparición de tumores en tres pacientes después del tratamiento de la IDCX-X basado en retrovectores ha llevado a los investigadores a dirigir la integración de los transgenes a lugares específicos del genoma humano. Se espera que la evaluación de estas herramientas de navegación para la inserción de transgenes ayude a reducir la aparición aleatoria de acontecimientos mutagénicos de inserción. Además del desarrollo de transgenes nuevos, se está progresando con los vectores virales y no virales. En los últimos años, el vector VAA ha experimentado una mejora significativa como sistema de transporte, por su capacidad para dirigirse al objetivo con diferentes de expresión transgénica VAA poco después de la transducción. Los lentivectores son más seguros ahora que en generaciones anteriores y serán el sujeto de nuevos ensayos clínicos planificados.



1. Lee T, Southern KW. Topical cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene replacement for cystic fibrosis-related lung disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;18:CD005599.
2. Moss RB, Milla C, Colombo J, et al. Repeated aerosolized AAV-CFTR for treatment of cystic fibrosis: a randomized placebo-controlled phase 2B trial. *Hum Gene Ther.* 2007;18:726-732.
3. Moss RB, Rodman D, Spencer LT, et al. Repeated adeno-associated virus serotype 2 aerosol-mediated cystic fibrosis transmembrane regulator gene transfer to the lungs of patients with cystic fibrosis: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Chest.* 2004;125:509-521.
4. Zhang SW, Xiao SW, Liu CQ. Recombinant adenovirus-p53 gene therapy combined with radiotherapy for head and neck squamous-cell carcinoma. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2005;27:426-428.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Aiuti A, Cattaneo F, Galimberti S, et al. Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *N Engl J Med.* 2009;360:447-458. *La terapia génica, combinada con el acondicionamiento de baja intensidad, puede ser un tratamiento eficaz para la IDCG en pacientes con deficiencia de ADA.*
- Castanotto D, Rossi JJ. The promises and pitfalls of RNA-interference-based therapeutics. *Nature.* 2009;457:426-433. *La capacidad de las secuencias cortas de ARN para modular la expresión génica ha proporcionado una herramienta potente con la que se puede estudiar la función génica y está llamada a revolucionar el tratamiento de las enfermedades.*
- Daley GQ. Stem cells: roadmap to the clinic. *J Clin Invest.* 2010;120:8-10. *Presenta una serie de artículos que ofrecen una perspectiva equilibrada y realista sobre algunos de los principales avances que podrían dar lugar a aplicaciones clínicas de células madre en medicina regenerativa.*
- Davies JC, Alton EW. Gene therapy for cystic fibrosis. *Proc Am Thorac Soc.* 2010;7:408-414. *Revisión.*
- Hyun I. The bioethics of stem cell research and therapy. *J Clin Invest.* 2010;120:71-75. *Consideración de la bioética de la investigación con células madre humanas teniendo en cuenta los últimos avances científicos.*
- Katz MG, Swain JD, Tomasulo CE, et al. Current strategies for myocardial gene delivery. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;50:766-776. *Revisión.*
- Kitchen SG, Zack JA. Stem cell-based approaches to treating HIV infection. *Curr Opin HIV AIDS.* 2011;6:68-73. *Revisión de ensayos clínicos recientes.*
- Maguire AM, High KA, Auricchio A, et al. Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet.* 2009;374:1597-1605. *La terapia génica puede revertir la enfermedad o evitar un deterioro mayor de la visión en pacientes con una degeneración retiniana hereditaria incurable por otros medios.*
- Parmacek MS, Epstein JA. Cardiomyocyte renewal. *N Engl J Med.* 2009;361:86-88. *Revisión exhaustiva que indica que el progreso hacia el tratamiento regenerativo para la cardiopatía debería basarse en una formulación sólida de la biología de las células cardíacas y del desarrollo.*

