

ENGINYERIA GENÈTICA I TERAPÈUTICA GÈNICA

JOAN J. GUINOVART

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Universitat de Barcelona

INTRODUCCIÓ

La possibilitat d'introduir eficientment material genètic a diferents tipus de cèl·lules ha creat noves perspectives en diversos camps. Un dels més prometedors consisteix en l'administració d'un àcid nucleic a cèl·lules o teixits amb finalitat terapèutica, o «terapèutica gènica». El desenvolupament d'aquest tipus d'intervenció depèn del coneixement de les bases moleculars de les malalties. És necessari identificar les proteïnes, l'alteració o deficiència de les quals origina una determinada malaltia o bé l'administració de les quals podria pal·liar els símptomes o el desenvolupament de la malaltia. Això suposa un treball d'identificació i caracterització de gens d'interès terapèutic. D'altra banda, es requereixen vehicles per introduir de manera eficient, específica i innòcua el DNA a cèl·lules de teixits, és a dir, es necessiten «vectors gènics».

El primer dels objectius, l'aïllament de gens d'interès terapèutic, ha avançat considerablement en els darrers anys i continua progressant a bon ritme. A més, cal esperar que el projecte de seqüenciació del genoma humà ens permeti en un futur proper disposar de la informació corresponent als 50.000–100.000 gens que hom calcula que posseeix el genoma humà. En canvi, els avenços referents a vectors gènics són menys previsibles. No existeix en l'actualitat cap vector que reuneixi totes les qualitats necessàries per fer-lo idoni per a la majoria d'aplicacions, ni tampoc sembla clara la solució que pugui tenir finalment èxit.

Un altre aspecte encara no resolt és el control de la integració del transgèn en els cromosomes de la cèl·lula receptora. Els plantejaments experimentals actuals mitjançant terapèutica gènica suposen la introducció d'una o diverses còpies del transgèn a la cèl·lula hoste i, en ocasions, la integració d'aquesta(es) còpia(es) al genoma cel·lular, la qual es realitza a l'atzar. Seria desitjable poder introduir elements que dirigissin la integració específica del transgèn, però encara desconexim els mecanismes que regulen aquest procés en eucariotes.

LA TERAPÈUTICA GÈNICA

La terapèutica gènica es concebí inicialment per al tractament de malalties d'origen genètic causades per deficiències en un únic gen. D'entre aquestes malalties, de les quals s'han descrit més de 3000, algunes són força freqüents: anèmia perniciosa, fibrosi quística, distròfia de Duchenne, talassèmia o fenilcetonúria; d'altres són rares, com la malaltia de Lesch-Nyhan o desordres en el metabolisme de lípids i carbohidrats. Actualment, ja han estat identificats i clonats els gens involucrats en uns centenars d'aquestes malalties. El raonament de l'aplicació de la terapèutica gènica és clara: si una malaltia està causada per la deficiència en un determinat gen, es pot corregir mitjançant la restitució del gen funcional. La terapèutica gènica podria, en teoria, proporcionar una solució definitiva per a aquestes malalties si s'aconseguís afectar exclusivament les cèl·lules diana i s'assolís una expressió adient i persistent.

No obstant això, aviat es va fer palès que, endemés de les malalties causades per la deficiència en un únic gen, la terapèutica gènica té un aplicació molt àmplia i pot emprar-se per a malalties molt variades: cardiovasculars, càncer, desordres endocrins o infeccions víriques. La transferència de gens té una utilitat general per substituir l'administració d'una proteïna amb valor terapèutic mitjançant l'administració del DNA que la codifica. D'aquesta manera es pot aconseguir teòricament la generació in situ de la proteïna, de manera perllongada, regulada i específica. Alternativament, es pot administrar DNA amb la finalitat de blocar l'expressió d'una determinada proteïna (tecnologia antisentit o ribozimes).

LA TERAPÈUTICA GÈNICA EN HUMANS

La terapèutica gènica en humans es restringeix a la manipulació gènica de cèl·lules somàtiques (Taula 1). La modificació genètica de cèl·lules germinals, per qüestions ètiques, només s'aplica a animals per a l'obtenció d'individus transgènics, amb un enfocament molt diferent: creació de models animals o millora de la producció. Tots els tipus de teixits són tractables mitjançant terapèutica gènica. Les característiques del teixit diana (replicació cel·lular, massa i localització) en determinaran la via d'administració i el vector que s'utilitzarà (Taula 2). També serà determinant el tipus de proteïna que es vol expressar, si és intracel·lular o si és una proteïna sistèmica. En el primer cas, es pretindrà, en general, modificar el major nombre possible de cèl·lules diana; en l'altre, la secreció de la proteïna des d'unes poques cèl·lules pot ésser suficient.

Podem distingir les estratègies per a intervencions de terapèutica gènica en actuacions in vivo o ex vivo. La transferència de gens al teixit intacte, o administració in vivo, es pot realitzar in situ en el teixit diana o per via sistèmica. Aquest tipus d'estratègia té una sèrie de particularitats, com és el fet

TAULA 1. Consideracions per al disseny i la implementació de la terapèutica gènica en l'espècie humana

1. Malaltia apropiada

- 1.1 Morbiditat i mortalitat significatives
- 1.2 Terapèutica disponible inadequada
- 1.3 Accessibilitat de les cèl·lules a modificar

2. Experiments preliminars in vitro o en animals d'experimentació

- 2.1 Demostració de l'eficiència de transferència gènica i de l'expressió en cèl·lules diana in vitro i in vivo
- 2.2 Avaluació dels efectes col·laterals en animals in vivo
- 2.3 Demostració de l'eficiència en cèl·lules humanes in vitro
- 2.4 Demostració de la remissió del fenotip patològic en models animals de la malaltia, si són disponibles

3. Disseny de protocols experimentats en humans

- 3.1 Valoració de la relació risc/benefici respecte a teràpies convencionals
- 3.2 Valoració del risc de transmissió vertical i horitzontal
- 3.3 Valoració de l'impacte a l'individu i a la família
- 3.4 Disseny d'un pla d'informació al públic

4. Obtenció del permís per a experimentació en humans

que no permet un procés de selecció de les cèl·lules que han adquirit el gen i que, en general, requereix afectar un gran nombre de cèl·lules. Quan l'administració és sistèmica, serà necessari disposar d'un vehicle que dirigeixi específicament el DNA al teixit diana, o bé es dirigirà específicament al teixit l'expressió del transgèn des d'una regió reguladora adient.

En el cas de l'administració ex vivo, es tracta d'aïllar in vitro les cèl·lules d'un determinat teixit i efectuar el procés de transferència gènica. Aquestes cèl·lules, que poden fins i tot sotmetre's a un procés de selecció, seran posteriorment reimplantades a l'individu donador.

A la pràctica, aquest sistema resulta idoni per a cèl·lules que tinguin capacitat de proliferació in vitro, i que puguin seleccionar-se per expressar establement el transgèn abans de ser reimplantades. Una alternativa a la terapèutica gènica ex vivo consisteix en la utilització de cèl·lules alienes a l'individu, habitualment línies cel·lulars manipulades genèticament per expressar de manera estable el transgèn.

TAULA 2. Vectors vírics actuals i tendències esperades

Activitat	Virus					Vector ideal
	Retrovirus MoMLV	Adenovirus	Herpes virus	Pox virus	Virus adeno-associat	
Capacitat d'insert (kb)	8 kb	7-8 kb	>20 kb	>25 kb	4,5 kb	1-1000
Títol (log ₁₀ [cèl·lules transduïdes/ml])	6-7	11	8	?	>9	>10
S'integra	Sí	No	No	No	Sí	Sí/No
Genera virus recombinants	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No
Oncogenicitat	Sí	Sí	?	?	?	No
Proteïnes víriques expressades	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No
Expressió estable	Sí/No	T*	Pobra	Lítica	Sí/?	Sí
Transferència in vivo	Pobra	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Transmès a cèl·lules quiescents	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Dianes:						
Transduccional	+/-	+	-	-	+	+++
Posicional	+/-	-	-	-	++	+++
Transcripcional	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+++

* T, transitòria.

CONCLUSIÓ

En resum, les eines i tècniques de transferència gènica de què disposem són encara imperfectes i això ha fet que ens hàgim quedat a les escapces pel que fa a les demostracions clíniques de l'èxit d'aquests procediments obtingudes fins a l'actualitat. Nogensmenys, el raonament de la terapèutica gènica és molt simple i el potencial d'aplicació molt important. Per tant, si bé els mitjans tècnics de què disposem a l'actualitat són limitats, cal esperar que el ràpid progrés de les tècniques que sustenten aquesta terapèutica ens apropi a un futur molt prometedor.