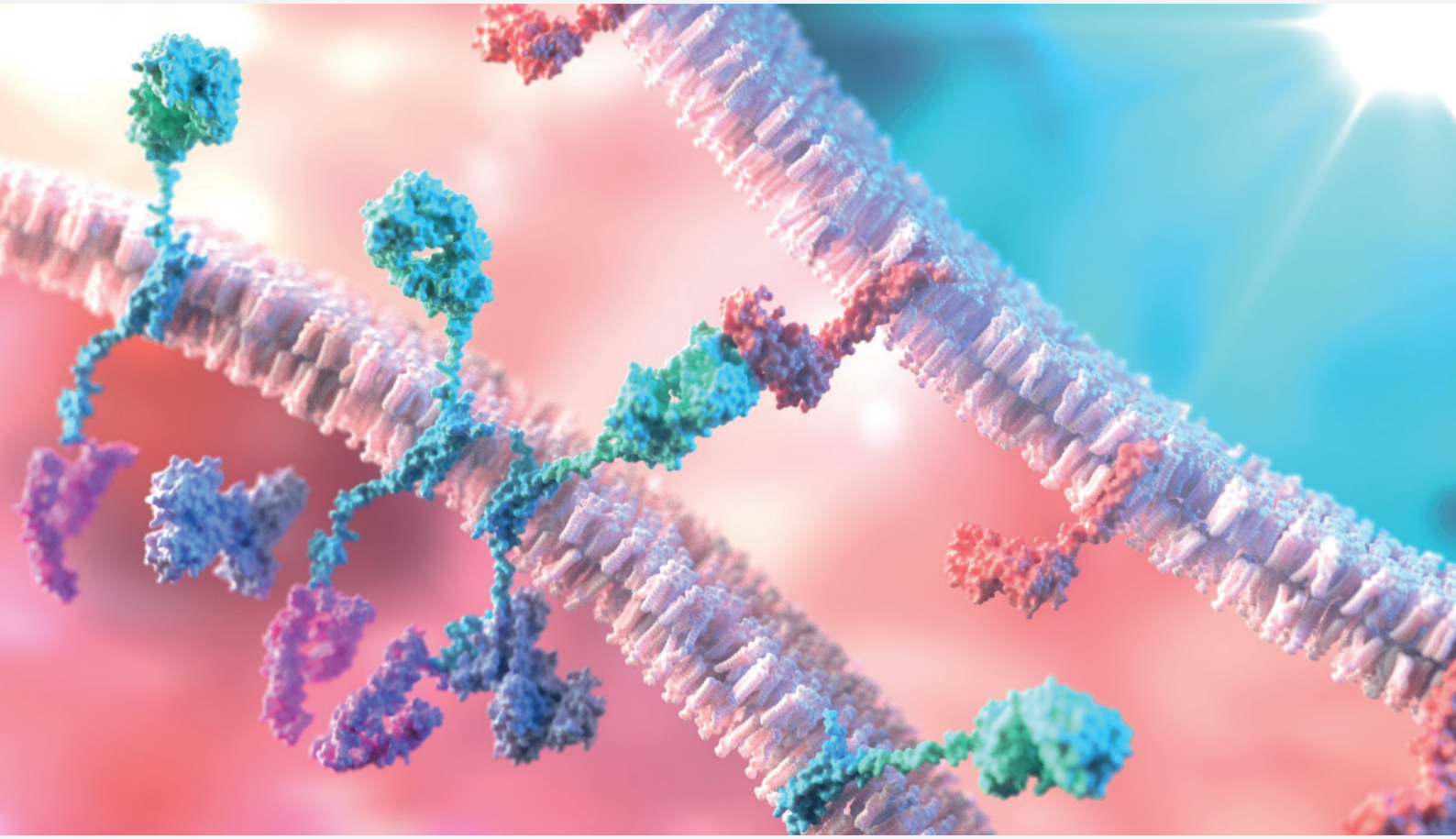

LA EVOLUCIÓN DE LA **TERAPIA GÉNICA**

Hace ya más de treinta años que se iniciaron los primeros ensayos clínicos de terapia génica. A pesar de las grandes promesas y las elevadas expectativas que se depositaron en esta nueva disciplina, durante una década los resultados de aquellos intentos iniciales fueron totalmente negativos.

Jordi Barquinero, Doctor en Medicina Investigador senior, Grupo de Terapia Génica y Celular en Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR)

Hubo que esperar hasta el año 2000 para que se publicara el primero ensayo exitoso, en una rara forma de inmunodeficiencia primaria (X-SCID), a la que muy pronto siguieron otras. Algunas de aquellas victorias no estuvieron exentas de problemas, en ocasiones muy serios, que enlentecieron su progreso, pero de los fracasos se suele aprender más que de los éxitos, de manera que, con redoblados esfuerzos, en los años siguientes la comunidad científica y médica especializada comenzó por fin a vislumbrar luz al final del túnel y, sobre todo a partir de los últimos 10 años, los éxitos en los ensayos clínicos se han ido acumulando a un ritmo cada vez más rápido, de manera que en este momento ya existen varios medicamentos de terapia génica aprobados por las principales agencias reguladoras (la EMA, europea, y la FDA, americana).

En función de cómo se utilizan los vectores, los vehículos para introducir material genético en las células

o tejidos diana, y también del tipo de vector utilizado, podemos distinguir dos grandes modalidades de terapia génica, la terapia *in vivo*, en la que los vectores se administran directamente al paciente, sea de forma local o sistémica, y la terapia génica *ex vivo*, en la que las células o tejidos diana se aíslan del paciente y se modifican genéticamente fuera de éste para finalmente ser infundidas o trasplantadas de nuevo a los pacientes. Esta clasificación ha configurado distintos modelos de éxito. Para la terapia *ex vivo*, las células diana han de ser necesariamente cultivables y trasplantables, y suelen ser en la mayoría de casos células madre hematopoyéticas o células T, cuya transducción requiere normalmente de vectores integrativos (g-retrovirus, lentivirus). En este ámbito ya existen en el mercado productos aprobados para tratar p.e. inmunodeficiencias primarias o anemias hereditarias como la b-talasemia, así como diversos productos basados en células T modificadas con receptores de antígeno quiméricos (*CAR-T cells*) orientados a la inmunoterapia en oncología. También están en fase de ensayo clínico otros productos de terapia génica para tratar diversas inmunodeficiencias primarias, la anemia falciforme o la anemia de Fanconi tipo A (este último proyecto liderado a nivel internacional por científicos del CIEMAT, Madrid). Por lo que respecta a la terapia génica *in vivo*, va dirigida principalmente a tejidos diana relativamente poco proliferativos y emplea sobretodo vectores no integrativos como los virus adenoasociados (AAV). En esta modalidad, los principales modelos de éxito que se han descrito hasta el momento son los que han utilizado como diana la retina, el hígado, la médula espinal o el músculo esquelético. Así, se han publicado numerosos ensayos clínicos con resultados positivos en diversas enfermedades hereditarias y ya se han aprobado y comercializado productos de terapia génica para enfermedades como la amaurosis de Leber, la atrofia muscular espinal o la hemofilia A, mientras que otros como los que están dirigidos a tratar una enfermedad genética tan prevalente como la distrofia muscular de Duchenne (1/3600 varones) se encuentran en fases de ensayo clínico muy avanzadas.

Aunque la mayoría de productos de terapia génica ya aprobados por la EMA y la FDA, y también los que están usándose en los ensayos clínicos, están basados en vectores virales, su empleo tiene importantes limitaciones. Los vectores integrativos (g-retrovirus o lentivirus), usados principalmente en terapias génicas *ex vivo*, pueden insertarse en regiones del genoma cercanas a oncogenes y transactivarlos, o bien inactivar genes supresores de tumores, lo que supone un potencial riesgo oncogénico. Esta oncogénesis ya se ha descrito en algunos casos, si bien los vectores más modernos incluyen diversos elementos que los hacen razonablemente mucho más seguros. Por lo que respecta a los vectores no integrativos, fundamentalmente los derivados de los AAV, que son con diferencia los más utilizados en terapias *in vivo*, por el momento no pueden administrarse a personas que tengan anticuerpos neutralizantes (AcN) frente a estos virus, lo que suponen aproximadamente el 40% de la población. Además, el 100% de las personas que reciben una inyección de estos vectores desarrollan estos anticuerpos neutralizantes, lo que impide que se puedan administrar una segunda vez. Por una parte, se están ensayando pautas que produzcan una ventana de inmunosupresión que permita administrar los vectores de una forma segura y eficaz. Una de las más prometedoras es el empleo de una proteasa de degrada las inmunoglobulinas G (IgG), y que reduce de manera drástica pero transitoriamente la cantidad de anticuerpos circulantes. Además, actualmente se están investigando estrategias para solventar estas limitaciones, incluyendo el desarrollo de nuevos vectores optimizados por ejemplo para atravesar la barrera hematoencefálica o que posean tropismos aumentados por órganos o tejidos específicos como el hígado o el músculo esquelético.

'a partir de los últimos 10 años, los éxitos en los ensayos clínicos se han ido acumulando a un ritmo cada vez más rápido'

Con todo, los últimos años han sido pródigos en la aparición y desarrollo de nuevos sistemas de vectores no virales, como son distintos tipos de nanopartículas lipídicas o poliméricas, que evitan algunos de los problemas asociados a los vectores virales usados en terapias *in vivo*, como la inmunogenicidad (p.e. los basados en AAV), por lo que teóricamente podrían administrarse repetidamente o ser usados en personas que hayan tenido contacto previo con esos mismos virus. Un ejemplo de éxito de este tipo de vectores han sido las vacunas de RNA, como las que se han utilizado con éxito en la actual pandemia producida por el virus Sars-Cov-2. Oficialmente, las vacunas genéticas no se consideran terapias génicas, aunque en realidad podrían considerarse como tales ya que no son otra cosa que moléculas con información genética que son administradas a personas con finalidades médicas.

En estas terapias comentadas basadas en vectores convencionales, el material genético administrado o bien permanece en forma episomal en el núcleo de las células transducidas (p.e. con los vectores AAV), o bien se integra en el genoma de una forma aleatoria o semialeatoria (p.e. cuando se usan lentivirus). Sin embargo, en los últimos años han aparecido nuevas herramientas que pueden ser dirigidas a dianas específicas del genoma, y modificarlas *in situ*. Estas nuevas tecnologías, conocidas en conjunto como edición génica, abren una nueva forma, mucho más precisa, de modificar la información genética o epigenética de las células, que algunos han denominado terapia génica 2.0. Entre estas herramientas de edición destacan las meganucleasas, las "nucleasas en dedos de zinc" (ZFN), las "nucleasas de actividad similar a activadores de transcripción" (TALEN), o las "repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas" (CRISPR). Se trata de nucleasas que contienen elementos de reconocimiento de secuencias genéticas concretas, y que únicamente se activan cuando reconocen y se unen a estas secuencias diana, pudiendo ser diseñadas "a medida" para dirigirlas a sitios específicos del genoma en los que pueden cortar la doble cadena de ADN, lo que activará la maquinaria reparadora del ADN celular, pues de no ser reparados, estos cortes resultan letales para la célula. Esta reparación puede ocurrir de dos formas, en presencia de moléculas de ADN que contengan secuencias homólogas a las regiones que flanquean el punto de corte, se puede producir una inserción limpia de la secuencia de estas moléculas de ADN donador justamente en el punto de corte. Esta sería la llamada reparación basada en homología, la más precisa y en general la más deseada. Alternativamente, en ausencia de estas moléculas donadoras, la reparación se basa en otro mecanismo reparador, mucho menos preciso, que introduce inserciones y/o deleciones (*indels*), y por tanto mutaciones, y que se denomina "unión de extremos no homólogos" (NHEJ). En general, estos sistemas de edición permiten una terapia génica dirigida, y podrían soslayar algunos de los inconvenientes de las terapias no dirigidas convencionales, aunque también tienen limitaciones, como la posibilidad de que hagan modificaciones en lugares no deseados (efectos *off target*). En el caso de los sistemas basados en CRISPR, las nucleasas utilizadas (p.e. Cas9 o Cas12) pueden realizar cortes en la doble cadena, pero también existen versiones modificadas que cortan una sola cadena de ADN o que están totalmente desprovistas de actividad catalítica, y que pueden ser utilizadas, unidas a otros enzimas (p.e. modificadores de bases nitrogenadas, modificadores epigenéticos, o transcriptasas reversas), únicamente para dirigir estas actividades enzimáticas a lugares concretos del genoma, lo que amplia el espectro de funcionalidades a nuevas modalidades de modificación genética como la edición de bases, el llamado "*prime editing*" o la edición epigenética, que, junto al desarrollo de nuevos vectores, en especial los no virales, prometen revolucionar en los próximos años la manera de entender y de hacer terapia génica ◉

klinea

BioPharmaceutical Engineering

Experience. Expertise. Excellence.

Engineering smart facility for your products.

- **Proceso BioFarmacéutico**
- **Instalaciones Críticas**
- **Transformación Digital**
- **Sostenibilidad**

- Barcelona
- Madrid

www.klinea.eu klinea@klinea.eu