



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA
TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI**

Autor: Raquel Teijeiro García

Tutora: Dra. Rafaela Raposo González

Convocatoria: Junio 2018

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	2
2.1. Anemia de Fanconi.....	2
2.2 La terapia génica	7
3. OBJETIVOS.....	8
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
6. CONCLUSIONES	16
7. BIBLIOGRAFÍA	17

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

- AF: Anemia de Fanconi
- GH: hormona del crecimiento
- HLA: antígeno leucocitario humano
- CTH: células troncales hematopoyéticas
- UFC-L: unidad formadora de colonias linfoide
- UFC-M: unidad formadora de colonias mieloide
- DEB: diepoxibutano
- MMC: mitomicina C
- G-CSF: factor estimulante de colonias granulocíticas
- MDS: síndrome mielodisplásico
- HSCT: trasplante de células madre hematopoyéticas
- PGD: diagnóstico genético preimplantacional
- X-SCID: inmunodeficiencia combinada grave asociada a cromosoma X
- AAVS-1: sitio asociado a adenovirus-1
- ZFN: nucleasa de dedos de Zn
- LV: lentivirus
- H/F-LV: lentivirus del sarampión con hemaglutinina y proteína de fusión
- VSV-G-LV: lentivirus G de la estomatitis vesicular
- LCL: línea celular linfoblástica

1. RESUMEN

La Anemia de Fanconi (AF) es una enfermedad de etiología genética en la que un gen relacionado con la reparación del ADN sufre una mutación generando en la célula una mayor fragilidad cromosómica y consiguiente pérdida de funcionalidad.

Hasta el momento, el único tratamiento eficaz de la enfermedad es el trasplante de células madre hematopoyéticas de un donante sano y HLA-compatible (antígeno leucocitario humano). Esta técnica ha mejorado gracias a los procedimientos de selección preimplantacional de embriones sanos y HLA-compatibles con el hermano receptor del trasplante. Aún así, existen muchos casos no compatibles con el trasplante de células madre para los que existen alternativas en fase de ensayo clínico como es el uso de terapia génica. Esta alternativa consiste en la introducción de células madre hematopoyéticas del propio individuo que han sido genéticamente corregidas a través del uso de un vector lentiviral. Los resultados en ratones inmunodeficientes fueron positivos, con lo que se ha iniciado el ensayo clínico en 4 pacientes con resultados prometedores hasta el momento.

Palabras clave: Anemia de Fanconi, terapia génica, vector lentiviral, trasplante de células madre hematopoyéticas.

ABSTRACT

The Fanconi Anemia is a disease with genetic etiology in which a repair-related DNA gene suffers from a mutation generating chromosomal fragility and, consequently, loss of cell's functionality. So far, the only effective treatment is the hematopoietic stem cell transplantation from a healthy HLA-compatible donor. This technique has improved thanks to the preimplantational selection of healthy compatible embryos. Even though, there are many cases where the hematopoietic stem cell transplantation is not viable. For them, alternatives in clinical trial phase exist, such as gene therapy. This alternative entails the hematopoietic stem cell introduction from the individual himself once they have been corrected through the usage of a lentiviral vector. The results in immunodeficient mice have been positive, consequently the clinical trials has been started in 4 patients with promising outcomes.

Key words: Fanconi Anemia, gene therapy, lentiviral vector, hematopoietic stem cell transplantation.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

2.1. Anemia de Fanconi

La anemia de Fanconi (AF) es un síndrome autosómico recesivo caracterizado por la fragilidad cromosómica que lleva a malformaciones congénitas en distintos órganos, insuficiencia medular progresiva y tendencia a enfermedades malignas. Esta se define como una enfermedad pediátrica rara cuya prevalencia es de 1/250.000-1/350.000 de los nacidos vivos.^{1,2}

Los afectados por esta enfermedad pueden padecer las siguientes manifestaciones clínicas: anomalías físicas, hematológicas y aparición de tumores malignos. No todos van a presentar las mismas manifestaciones y muchas van a estar correlacionadas con el genotipo específico de cada afectado, aun así pueden servir como punto de sospecha en el diagnóstico.³



Fig. 1- Anomalías en pulgares

Las anomalías físicas pueden aparecer en cualquier sistema orgánico, puesto que son provocadas por la incapacidad de las células para acarrear la función para la que se han diferenciado debido a daños cromosómicos promovidos por la enfermedad. La anomalía más común sería el retraso en el crecimiento, que sufre hasta un 77% de los afectados⁴, provocado por anomalías endocrinas que hacen que los niveles de hormona del crecimiento (GH) sean bajos, que haya resistencia a ella u otros casos en los que no se ha conseguido identificar la causa. La pigmentación anormal de la piel sería la siguiente manifestación más común afectando a un 57%, y engloba tanto hipopigmentación como hiperpigmentación y algunas manchas conocidas como “café con leche”.³ Las anomalías también afectan de forma habitual al esqueleto, sobre todo a la mano y al antebrazo donde, respectivamente, podríamos encontrar anomalías en pulgares (Fig. 1), ausentes o malformados y radios hipoplásicos.

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

A nivel renal, pueden existir malformaciones en la posición y forma del riñón, como por ejemplo el riñón en herradura. Hay ciertas facciones y rasgos característicos comunes a muchos de los enfermos de anemia de Fanconi como sería la microftalmia, microencefalia, implantación anómala del pelo o implantación baja de las orejas. Aparte, de forma menos frecuente, también se podrían encontrar casos de retraso mental, pérdida de oído, hipogenitalismo y problemas cardíacos. ^{1, 3, 4, 5}

Estatura	Corta por bajos niveles de GH	77%
Piel	Hiperpigmentación, manchas café con leche	57%
Brazos	Hipoplasia del pulgar, ausencia de radio, polidactilia	35%
Gónadas	Hipogonadismo, malform. uterinas, azoospermia	25%
Cabeza	Microcefalia, hidrocefalia	20%
Ojos	Estrabismo	20%
Riñones	Hipoplasia o aplasia renal, hidronefrosis	20%
Orejas	Implantación baja	10%

Cuadro resumen de posibles síntomas

Las anomalías hematológicas son desencadenadas por el progresivo fallo medular, ya que es la médula ósea la encargada de la producción de todas las líneas sanguíneas o hematopoyesis. En la médula osea encontramos las células STEM CELL ó CTH (células troncales hematopoyéticas) que tienen capacidad de autorreplicarse y diferenciarse, es a estas a quienes llamamos células madre. La CTH da origen a un progenitor multipotente (UFC-LM), que se diferencia en progenitor linfoide común (UFC-L) o en un progenitor mieloide común (UFC-M) de donde saldrán las distintas líneas sanguíneas diferenciadas. Normalmente en la primera década se va a presentar ya la pancitopenia, que es el déficit de las tres líneas sanguíneas de manera simultánea: globulos rojos, globulos blancos y plaquetas. Los pacientes con Anemia de Fanconi pueden evolucionar hacia mielodisplasia o leucemia mieloblástica aguda debido a anormalidades cromosómicas de las células madre de su médula, lo cual tendría peor pronóstico. ^{3, 7}

Existe una mayor predisposición a la aparición de tumores malignos en los afectados por Anemia de Fanconi, aparte de la leucemia que aparece en un 10% de los casos. Cuanto mayor sea la edad del paciente, más probable es el desarrollo de un tumor maligno. Son comunes el cáncer de cabeza, cuello, esófago, hígado o en el aparato reproductor. ⁸

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

La **etiopatogenia** de la Anemia de Fanconi es multigenética y autosómica recesiva, esto quiere decir que para que el individuo padezca la enfermedad ambos progenitores deben ser portadores y este debe recibir el gen defectuoso de la AF de ambos, y en caso de sólo recibir un gen no funcional sólo sería portador. La característica principal de las células de la AF es la inestabilidad cromosómica y la sensibilidad de estas a los agentes que inducen enlaces cruzados en el ADN como la mitomicina C o el diepoxibutano. Se han descrito hasta 22 genes implicados en la enfermedad que van a corresponder a los diferentes grupos de complementación. Cada grupo de complementación tiene un fenotipo diferente y, en algunos casos, se puede determinar la naturaleza y severidad de la patología en función de a cuál pertenezca. Por ejemplo, los grupos FANCA, FANCC O FANCG suponen un 85% de los casos de AF. Hay evidencias de que todas las proteínas codificadas por los genes FANC actúan sobre una vía común encargada del reconocimiento de daños en el ADN y su reparación del ADN, por lo que en el momento que uno de los eslabones falla, se desarrolla el daño cromosómico y se desencadena el correspondiente fallo celular. ^{1, 2, 9, 10}

El diagnóstico de la Anemia de Fanconi se va a realizar con el test de diepoxibutano (DEB) y mitomicina C (MMC), en el cual se exponen los linfocitos del paciente a estas sustancias y se busca un aumento de la rotura cromosómica y de las formas radiales de estos. Como método de confirmación se busca identificar cualquiera de los 22 genes de la anemia de Fanconi en el individuo y en cuántos alelos aparecen, ya que 19 de ellos deben ser bialélicos para provocar la enfermedad (los recesivos). ⁶

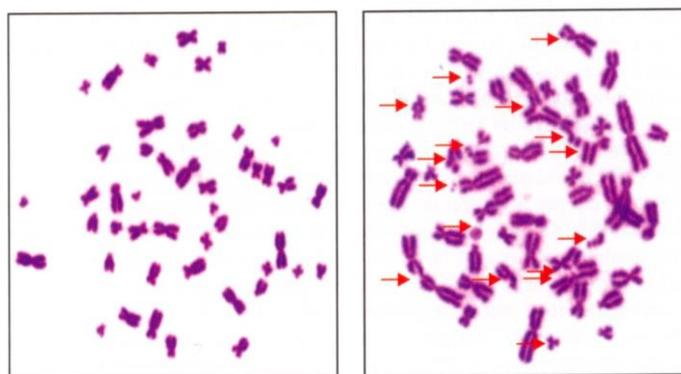


Fig. 2.-Test de fragilidad cromosómica (linfocitos T con mitomicina C)

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

El tratamiento de la Anemia de Fanconi busca tanto alargar la esperanza de vida como mejorar las condiciones de los pacientes lo máximo posible, es por esto por lo que va a estar dirigida a los tres niveles fundamentales de la enfermedad: las anomalías físicas, el fallo medular y los tumores malignos.

Desde el inicio de la enfermedad, el afectado debe acudir a revisiones frecuentes de oído, tracto urinario, desarrollo psicomotriz y oftalmología para que en el momento en el que aparezca cualquier anomalía el especialista le ofrezca la alternativa terapéutica más adecuada.¹

El uso de andrógenos está destinado a subsanar las anomalías hematológicas provocadas por el fallo medular, como la depleción tanto de glóbulos rojos como de plaquetas, siendo efectivas en el 50% de los individuos. Sin embargo, cuando el tratamiento es continuado, la respuesta va disminuyendo. El andrógeno utilizado sería la **oximetolona**. También se pueden utilizar citoquinas como el factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) Neupogen® o el factor estimulante de colonias granulomonocíticas (GM-CSF) Molgramostin®, también están destinadas al tratamiento de los problemas hematológicos. Por último, el único tratamiento efectivo hasta el momento del fallo medular es el trasplante de células madre hematopoyéticas o Alo-Trasplante. Los mejores resultados se han obtenido en hermanos con HLA- idéntico, pero esto no siempre es posible. El problema principal es que los enfermos de Anemia de Fanconi son muy sensibles a la radiación y a la quimioterapia requerida previa al trasplante debido a su propensión a la rotura cromosómica, lo que en un principio supuso un grave problema. En la actualidad, se han obtenidos muy buenos resultados con el quimioterápico **fludarabina** que permite evitar la radiación en el preoperatorio.^{6, 11}

Por tanto, dependiendo del grado de fallo medular se deberá seguir el siguiente algoritmo en el tratamiento:

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

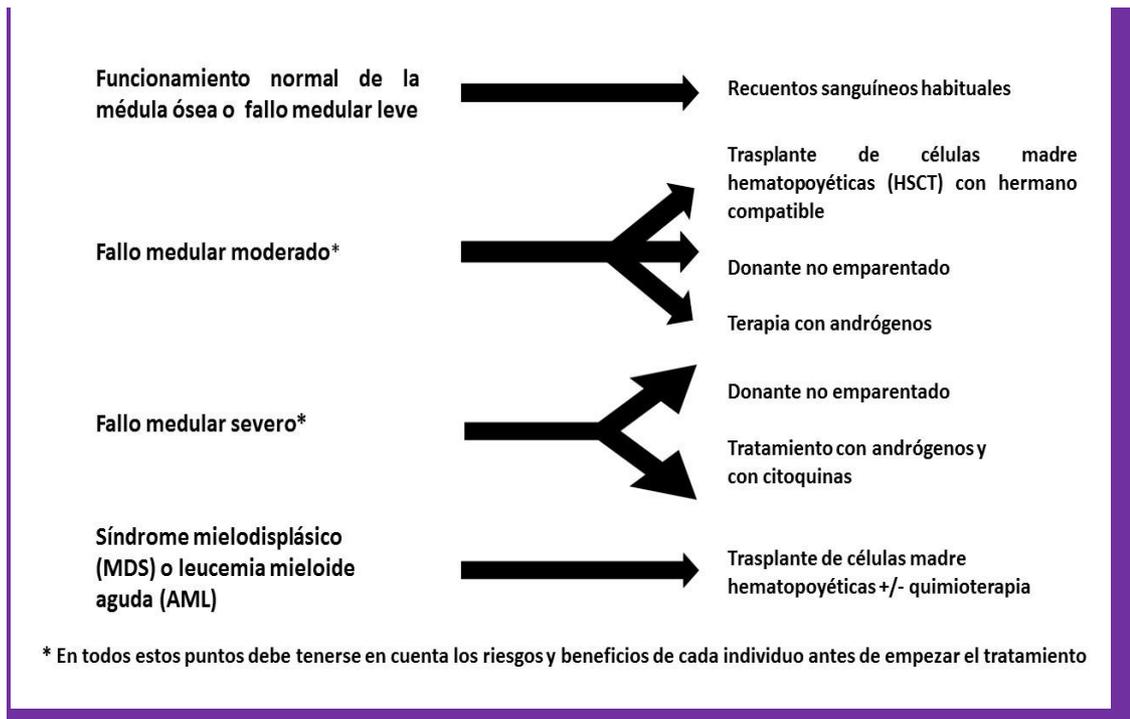


Fig 3.- Algoritmo de tratamiento según fallo medular ¹¹

Actualmente, se está investigando el posible uso de la terapia génica con células madre hematopoyéticas como método de tratamiento para la Anemia de Fanconi, ya que este ya es sujeto de estudio para muchas otras enfermedades causadas por defectos genéticos. La terapia génica aplicada a la Anemia de Fanconi actual busca subsanar los defectos genéticos en las células madre hematopoyéticas a través del uso de lentivirus como vectores.

2.2. La terapia génica

La terapia génica es la práctica por la cual se corrige la información genética de un individuo reemplazando el gen asociado a la enfermedad por la versión sana del mismo. Para esto, se extraen las células del paciente y se mezclan con el virus que ha sido previamente modificado para que no pueda reproducirse y se le ha insertado el gen de interés. Las células del paciente que hayan integrado el gen de interés en su genoma son inyectadas de nuevo en el individuo donde producirán la proteína u hormona requerida.

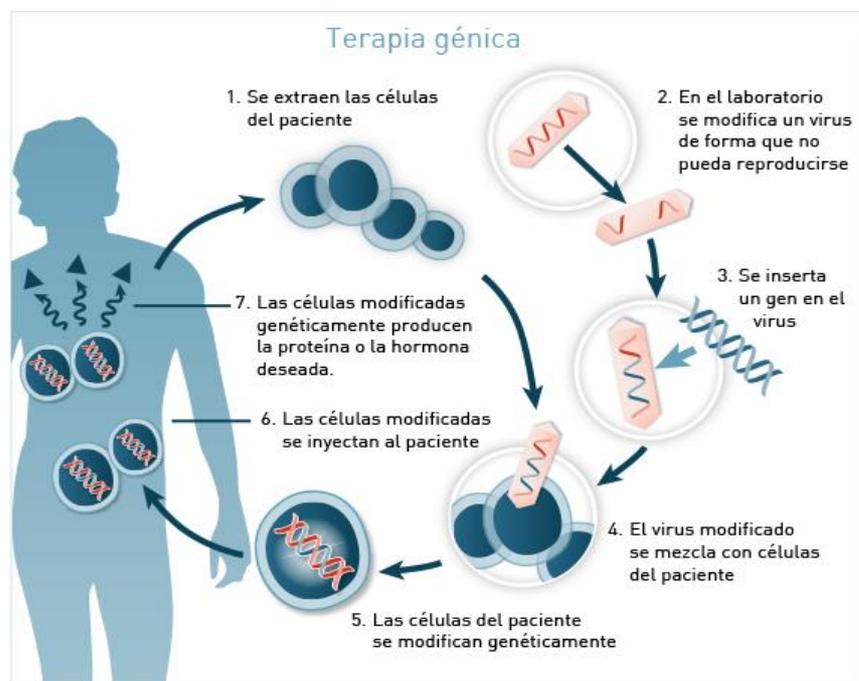


Fig 4.- Procedimiento general de terapia génica

Sin embargo, para esto es necesario superar diversas dificultades:

- El gen o genes del vector deben llegar al tejido específico donde se necesita y no otros donde, además, podría provocar consecuencias graves como activación de oncogenes o inhibición de genes supresores.
- La información genética debe evadir la respuesta de la célula y conseguir atravesar tanto la membrana plasmática como la nuclear de la célula huésped.

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

- Para que se exprese la proteína codificada, la información genética tiene que incluirse en el material genético de la célula huésped y ser expresado, por lo que será importante la posición en la que se incluya.

Para que se cumplan todos estos requisitos se utilizan virus como vectores ya que, como parte de su ciclo normal de infección, colonizan las células e introducen su material genético en el genoma normal. El tipo de virus a escoger como vector depende primordialmente de qué tipo de células se quiera infectar y de que su producción sea fácil, segura y estable. Entre los virus utilizados como vector se encuentran los adenovirus, los virus herpes simplex y los retrovirus (que incluye el género de los Lentivirus de los que hablaremos posteriormente como parte del tratamiento de la anemia de Fanconi) ^{12, 13}

3. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es recopilar los últimos estudios realizados sobre el tratamiento de la Anemia de Fanconi, en concreto, todos aquellos avances obtenidos a partir de terapia génica en aquellos pacientes en los que no existe posibilidad de trasplante de células hematopoyéticas por falta de un donante HLA-compatible u otras incompatibilidades del tratamiento.

Con este fin, también se abarcará en este artículo los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad, los tratamientos utilizados hasta el momento y la posibilidad de éxito que se espera obtener de los tratamientos con terapia génica.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

En la realización de este trabajo sobre el tratamiento de la Anemia de Fanconi se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica a través de fuentes y bases de datos como: PubMed, Science Direct o Google Academics. Ya que el tema es actual, se han utilizado artículos recientes para poder dar la visión más actualizada posible. A la hora de realizar la búsqueda de información en las fuentes bibliográficas se han utilizado palabras clave como: “Fanconi Anemia”, “gene therapy”, “hematopoietic stem cell transplantation” y “lentivirus vector”. La lista completa de fuentes utilizadas se puede encontrar en el apartado de bibliografía.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hoy en día, el único tratamiento capaz de corregir el fallo medular propio de la Anemia de Fanconi es el trasplante de células madre hematopoyéticas. Sin embargo, esta opción sigue presentando diversas dificultades, desde encontrar un donante HLA-compatible hasta evitar la aparición de síndromes mielodisplásicos (MDS) una vez realizado con éxito el trasplante.¹⁴

El trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT) consiste en la destrucción de las células madre de la médula ósea de un individuo para que puedan ser sustituidas por las de un donante libre de un defecto que está provocando una patología. Hay que tener en cuenta que, como en todo trasplante, puede haber procesos de rechazo provocados por el sistema del antígeno leucocitario humano (HLA) que agrupa un conjunto de moléculas de elevado polimorfismo que se encuentran en la superficie celular y son capaces de desencadenar reacciones inmunes en caso de que el cuerpo no las identifique como propias. Esta es la razón por la cual se van a buscar donantes HLA-idénticos o, en su defecto, HLA-compatibles.¹⁵

El mayor índice de supervivencia en HSCT lo tienen aquellos individuos menores de 10 años cuyo donante es un hermano HLA-idéntico, con un 85% de supervivencia a los 5 años del proceso y, en el caso de edades superiores a 10, con un 65% de supervivencia en los 5 años siguientes. Sin embargo, este porcentaje disminuye en el caso de hermanos HLA-compatibles (no idénticos) y aún más en el caso de donantes no emparentados. Es una realidad que la mayoría de enfermos de Anemia de Fanconi no tienen hermanos HLA-idénticos sanos, por lo que deben recurrir a centros de donantes de médula, aunque la probabilidad de supervivencia sea menor.¹⁴

Gracias a la tecnología de la fecundación in vitro, se han desarrollado técnicas de selección preimplantacional de embriones por las que los progenitores pueden tener hijos libres de enfermedad y HLA-compatibles que en el futuro podrían ser donantes de células madre hematopoyéticas para sus hermanos con Anemia de Fanconi. Este proceso engloba los siguientes pasos:

- 1) La fertilización in vitro es el punto de partida del proceso, y ésta consiste en la extracción de un ovocito por aspiración de los folículos ováricos estimulados

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

previamente. Una vez conseguido el ovocito que va a dar lugar al óvulo en el laboratorio, in vitro, se fecunda con el espermatozoide dando lugar al embrión listo para la implantación. Como en el caso de la anemia de Fanconi no basta con conseguir un embrión cualquiera, sino que necesitamos uno sano y HLA-compatible, antes de la implantación en el útero se harán distintas pruebas para la selección del embrión adecuado. ¹⁶



Fig 5.- Fecundación in vitro

- 2) Una vez se han obtenido varios embriones, se deja que se dividan tres días hasta que alcanzan el estadio de 8 células. Entonces se extraen una o dos células de cada uno de ellos, llamadas blastómeros, para analizar su ADN y su sistema HLA.
- 3) Se analiza su material genético en busca de los genes responsables de la enfermedad y se comprueba si posee el gen sano o el defectuoso.
- 4) Se seleccionan aquellos embriones de los que proceden las células que hayan dado test positivos en el HLA del hermano enfermo y con el gen sano. Este proceso se conoce como diagnóstico genético preimplantación (PGD) ¹⁴
- 5) Se implanta en el útero de la madre el embrión seleccionado o se congela para su uso posterior.
- 6) Aquellos embriones que no se utilicen por poseer el gen defectuoso o por incompatibilidad con el hermano enfermo se descartan o se donan para la investigación.

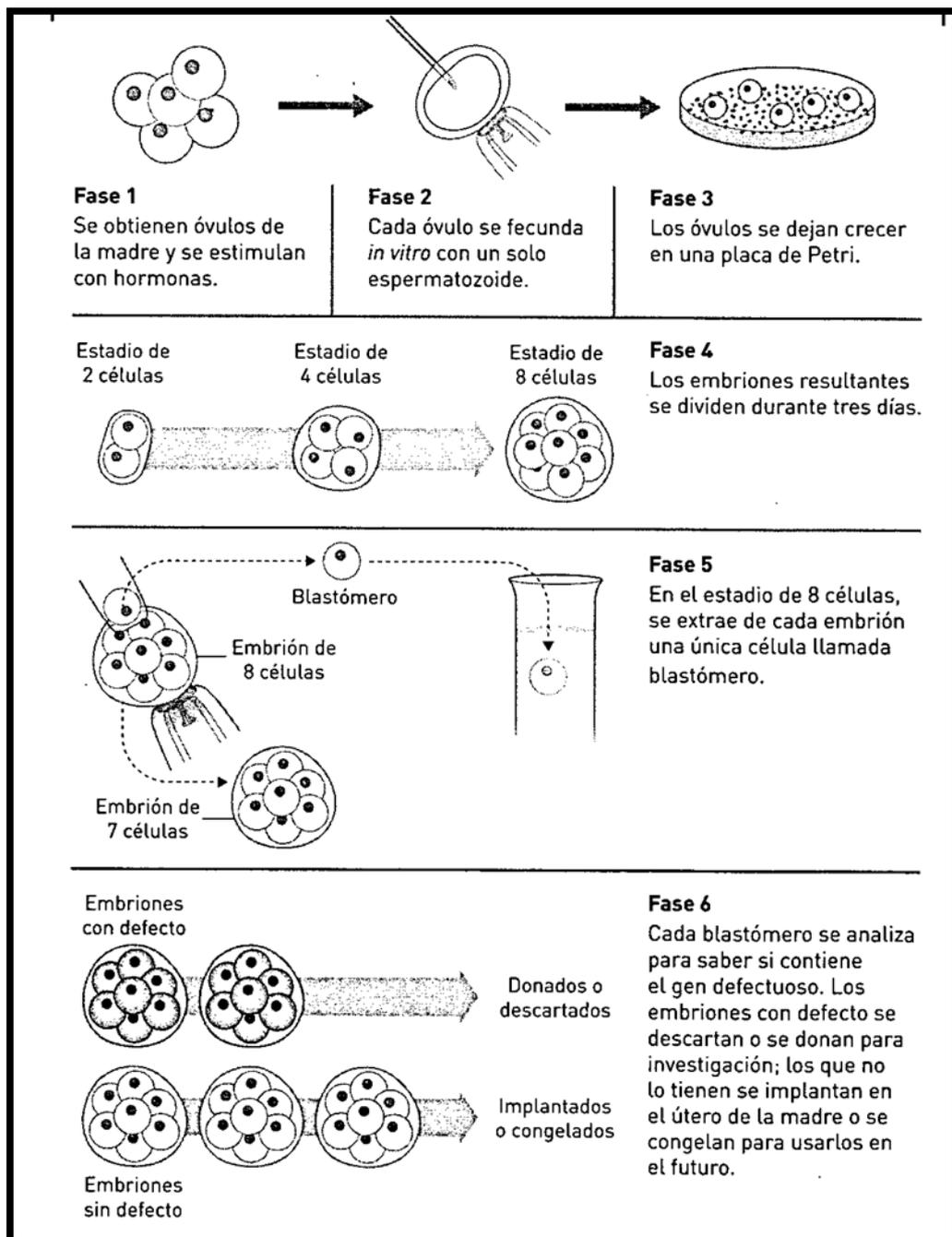


Fig. 6.- Selección Preimplantacional de Embriones

Con el fin de escoger el tratamiento más adaptado a cada individuo, se debe tener en cuenta las condiciones en las que se han obtenido mejores resultados en el trasplante y cuales son los posibles efectos secundarios de este. Entre estos factores debe primar: la edad, el tipo de donante, las transfusiones recibidas anteriormente, presencia de infecciones y la cantidad de órganos que estén fallando. Como ya ha sido citado anteriormente, los mejores resultados se obtienen en menores de 10 años y con un donante hermano HLA-idéntico. También, aquellos que no hayan recibido transfusiones sanguíneas como forma de subsanar los problemas hematológicos de la enfermedad tendrán más posibilidades de éxito. Y, por último, se tendrá en cuenta que el paciente no presente una infección generalizada ni esté cerca del fallo orgánico puesto que estas situaciones no serían compatibles con el trasplante.

Actualmente, existen otras alternativas en desarrollo para aquellos pacientes que no cumplan alguno de los requisitos previos y, por tanto, el tratamiento HSCT no sea el adecuado. Entre estos tratamiento encontramos el uso de andrógenos, de G-CSF, la práctica de transfusiones de forma crónica o la terapia génica.

En los últimos años, se ha desarrollado en España una nueva estrategia para el uso de la terapia génica en Fanconi gracias a un equipo de la Red Española de Investigación sobre Anemia de Fanconi coordinado por el Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT). Este supone un protocolo para la corrección genética de las células madre hematopoyéticas extraídas de la sangre periférica del paciente utilizando un lentivirus como vector del gen sano. Estas células madre corregidas han sido capaces de originar células sanguíneas humanas libres de enfermedad en ratones trasplantados inmunodeficientes.¹⁷

Se ha desarrollado un protocolo por el cual se administra al paciente una combinación de G-CSF con Plerixafor, con lo que se consigue que las células madre hematopoyéticas CD34+ se movilicen a sangre periférica de donde son extraídas. El vector utilizado es un lentivirus al que previamente se le ha introducido el gen de interés que, en estos ensayos, es el gen FANCA puesto que alrededor del 60% de los enfermos de AF presentan este gen mutado. Estas células de AF CD34+ trasplantadas son capaces de proporcionar ventajas proliferativas frente a las células propias no corregidas.^{17, 18}

Uno de los puntos más estudiados para obtener el mejor resultado posible en la técnica ha sido el criterio de elección del vector. Inicialmente, se aceptó la hipótesis de que el sitio de inserción en el genoma de los retrovirus, que abarcan entre otros los gammaretrovirus y los lentivirus, era aleatorio. Sin embargo, tras obtener resultados muy negativos en ensayos con terapia génica retroviral en pacientes con inmunodeficiencia combinada grave asociada al cromosoma X (X-SCID) por aparición de leucemias y otros procesos oncogénicos, se comenzaron a estudiar los sitios de inserción de los distintos virus.¹⁹

Se descubrió que los gammaretrovirus se insertaban en la región lateral 5' cuya función está relacionada con la regulación de la transcripción. Los genes que interrumpen regiones reguladoras del genoma son más mutagénicos. Por otro lado, se comprobó que los lentivirus no se integraban en esta zona del genoma, por lo que se preveía que su mutagénesis fuese mucho menor.¹⁹

El lugar de inserción del lentivirus utilizado como vector por el CIEMAT se encuentra en el locus AAVS-1 (adeno-associated virus site 1) que se ha comprobado que es seguro. La especificidad de inserción en el locus corre a cargo de las nucleasas de dedos de Zinc (ZFN) que son proteínas con un dominio de unión al ADN formado por lo que se denominan dedos de Zinc y un dominio encargado de la rotura del ADN. Estas ZFN se pueden diseñar para que se unan de forma específica a una región del genoma, rompan la doble hélice y así se pueda introducir la mutación transportada por el vector.²⁰

Una vez elegido el género lentivirus como vector, se realizaron estudios con otro objetivo: que las células CD34+ transducidas no pierdan el potencial de las células madre. Este desaparece cuando son estimuladas con citoquinas con el fin de que sean capaces de introducir el material genético de algunos virus. Se ha hecho un estudio comparativo entre dos lentivirus (LV): el lentivirus del sarampión con hemaglutinina y proteína de fusión (H/F-LV) y el virus G de la estomatitis vesicular (VSV-G-LV). De este se extrajeron los siguientes resultados:

- El virus H/F-LV es capaz de transducir el 100% de la información en células humanas CD34+ que hubieran sido previamente estimuladas con citoquinas en una sola aplicación

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

- El virus H/F-LV es capaz de transducir hasta un 70% de la información en células hCD34+ que no hubieran sido preestimuladas con citoquinas, mientras que el virus VSV-G-LV en este caso apenas alcanza el 5% de transducción.

Teniendo en cuenta que H/F-LVs son capaces de transducir la información genética a los progenitores hematopoyéticos CD34+ sin estimulación previa, no afectarán a su pluripotencialidad. Esta es la razón por la que el estudio evalúa positivamente la utilización de estos lentivirus como vectores en el tratamiento de Anemia de Fanconi.¹⁸

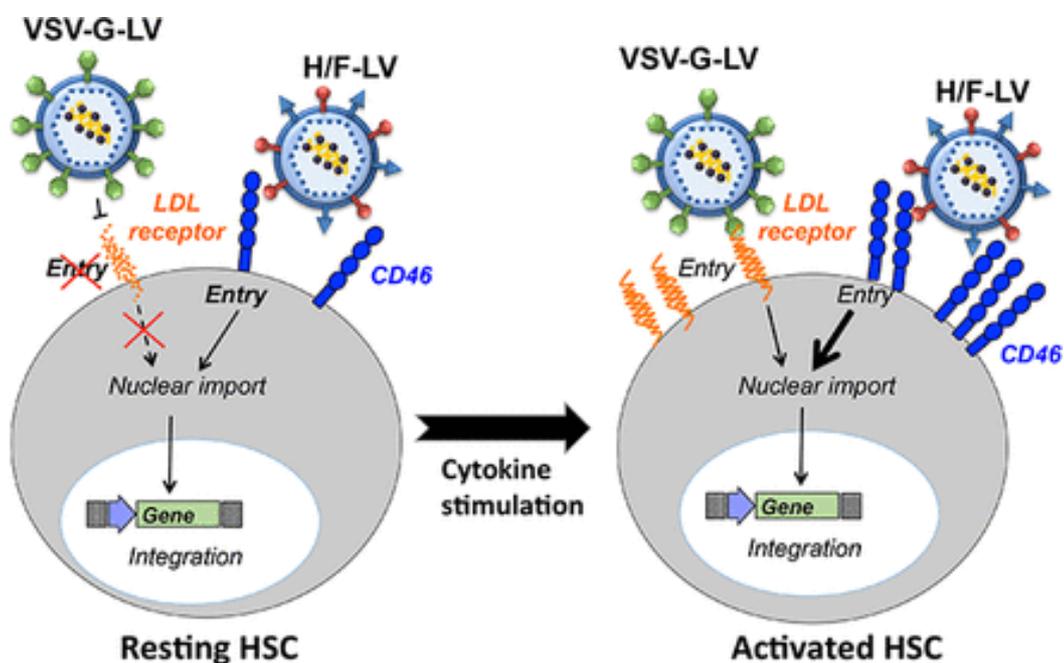


Fig 7.- Transducción lentiviral en células madre hematopoyéticas¹⁹

Este vector, diseñado por el CIEMAT, ha obtenido la clasificación de medicamento huérfano. Este término se refiere a aquellos productos medicinales destinados al diagnóstico, prevención o tratamiento de enfermedades raras o muy graves que, en general, no interesa su comercialización por parte de la industria farmacéutica porque la baja prevalencia de estas enfermedades generaría pérdidas.²¹

Para el desarrollo del vector final que fue insertado primero en ratones y luego en humanos, se hicieron estudios previos en los que se mostró que la inserción mediada

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

por nucleasas con dedos de Zinc (ZNF) del gen de la proteína verde fluorescente (EGFP) en el locus AAVS1 in vitro era posible en líneas celulares linfoblásticas (LCLs). Tras esto, llevaron a cabo el mismo experimento, pero esta vez con el gen FANCA, y se obtuvieron células linfoblásticas corregidas. Por último, el paso restante era insertar el gen FANCA en el mismo locus gracias a las mismas nucleasas, pero en células madre CD34+. Fueron estas células las que se insertaron en ratones inmunodeficientes obteniendo células sanguíneas humanas sin el defecto.²²

Actualmente, los ensayos clínicos ya están en marcha en cuatro pacientes de entre 3 y 6 años de distintas ciudades españolas que no podían ser sometidos a trasplante de células madre hematopoyéticas y, por el momento, están respondiendo al tratamiento positivamente. Tras la inserción de las células transducidas por el lentivirus con el gen FANCA, se ha observado que estas poseen una ventaja proliferativa frente a las células defectuosas mayor que en otras enfermedades genéticas con el mismo tratamiento, es decir, las células insertadas son capaces de repoblar la médula ósea del enfermo sin necesidad de trasplantar grandes cantidades de células o repetir el tratamiento.²³

Entre las ventajas que podría suponer este tratamiento frente al trasplante de células madre hematopoyéticas en caso de que los ensayos clínicos avancen positivamente, encontramos:

- No se necesita quimioterapia previa para dar cabida a la células nuevas, estas presentan ventaja proliferativa.
- No hay riesgo de rechazo puesto que las células transducidas son del propio paciente.
- Los efectos adversos son menores hasta el momento.
- Se disminuye el riesgo de desarrollar un tumor sólido asociado al trasplante alogénico.²³

Los resultados esperados de este ensayo en cuanto a eficacia y seguridad son muy prometedores. Las agencias se podrían encontrar frente a una nueva estrategia terapéutica para el tratamiento de la Anemia de Fanconi que incluso podría convertirse en el tratamiento de elección por delante del trasplante de células madre hematopoyéticas.

6. CONCLUSIONES

1. El uso de la terapia génica como tratamiento de la Anemia de Fanconi puede suponer una alternativa segura y eficaz en caso de incompatibilidad del paciente con el trasplante de células madre hematopoyéticas, e incluso llegar a ser el tratamiento de primera línea si los ensayos clínicos arrojan buenos resultados.
2. La selección preimplantacional permite la obtención de embriones sanos y HLA- idénticos al hermano enfermo para llevar a cabo el trasplante de células madre hematopoyéticas de sangre de cordón umbilical.
3. La inserción de los genes FANC corregidos en las células madre del paciente permite obtener células sanguíneas humanas sanas en ratones inmunodeprimidos.
4. El uso de lentivirus como vectores virales permite tanto la transducción de la información genética como el mantenimiento de la pluripotencialidad de la célula madre.
5. El avance de la terapia génica puede ayudar, no solo en el tratamiento de la Anemia de Fanconi, sino en cualquier enfermedad con etiopatogenia genética.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Sagaseta de Ilurdoz M, Molina J, Lezáun I, Valiente A, Durán G. Anemia de Fanconi: Consideraciones actuales. Anales Sis San Nav [Internet]. 2003 [citado en mayo de 2018]. Vol 26(1). Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000100006
2. Ramírez M, Surrallés J. Anemia de Fanconi: nuevo gen causal identificado. Genética Médica. [Internet]. 2017 [citado en mayo de 2018]. Disponible en: <https://revistageneticamedica.com/2017/08/04/rfwd3-anemia-fanconi/>
3. D'Andrea A, Dahl N, Guinan E, Shimamura A. Marrow Failure ASH Education Book. [Internet]. 2002 [citado en mayo de 2018]. Vol 2002(1): p58-71. Disponible en: <http://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2002/1/58.full>
4. Glanz A, Fraser F. Spectrum of anomalies in Fanconi Anemia. Journal of Medical Genetics. [Internet]. 1982 [citado en mayo de 2018]. Vol 19: p412-416. Disponible en: <http://jmg.bmj.com/content/jmedgenet/19/6/412.full.pdf>
5. Wajnrajch MP, Gertner JM, Huma Z, Popovic J, Lin K, Verlander P et al. Evaluation of growth and hormonal status in patients referred to the International Fanconi Anemia Registry. Pediatrics. [Internet]. 2001 [citado en mayo de 2018]; Vol 107(4). Disponible en: <http://pediatrics.aappublications.org/content/107/4/744.short>
6. Mehta P, Tolar J. Fanconi Anemia. GeneReviews [Internet]. 2002 [actualizado en 2018; citado en mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1401/>
7. González A. E, Carrillo P. Hematopoyesis. [Internet] En: Fortoul T. I. Histología y biología celular. 3º edición. México: McGraw-Hill Education; 2017. Capítulo 10. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1995§ionid=150301032>
8. Alter BP. Fanconi's anemia and malignancies. Am J Hematol [Internet]. 1998 [citado en mayo de 2018] Vol 53(2): p99-110. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/%28SICI%291096-8652%28199610%2953%3A2%3C99%3A%3AAID-AJH7%3E3.0.CO%3B2-Z>
9. Annette L. Medhurst Pia A.J. et al. Direct interactions of the five known Fanconi anaemia proteins suggest a common functional pathway. Human Molecular Genetics. [Internet].

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

- 2001 [citado en mayo de 2018]. Vol 10(4): p423-430. Disponible en: <https://academic.oup.com/hmg/article/10/4/423/2901544>
10. Dong H, Nebert D, Bruford E, Thompson D, Joenje H, Vasiliou V. Update of the human and mouse Fanconi anemia genes. Human Genomics. [Internet]. 2015 [citado en mayo de 2018]. Vol 9(32) Disponible en: <https://humgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40246-015-0054-y>
 11. Tolar J. Novel Stem Cell Treatment Options. [Internet] En: Laura Hays, editor. Fanconi Anemia: Guidelines for Diagnosis and Management. 4° ed. 2014. [citado en mayo de 2018] p. 257-269. Disponible en: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/histologia/normas-vancouver-buma-2013-guia-breve.pdf>
 12. Terapiagenica.science [Internet]. Terapiagenica.science. 2018 [citado en mayo de 2018]. Available from: <https://terapiagenica.science/>
 13. Legorreta M, Martínez F, Hernández F, Zentella A. Los vectores virales y la transgénesis. Vertientes [Internet] 2012 [citado en mayo de 2018]. Vol 15(1): p5-14. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/vertientes/vre-2012/vre121a.pdf>
 14. Wagner JE, Tolar J, Auerbach AD, MacMillan ML. Hematopoietic Cell Transplantation for Fanconi Anemia. En: Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation: 5° edición. 2016. [citado en mayo de 2018] Vol 2(2): p923-946. Disponible en: <https://experts.umn.edu/en/publications/hematopoietic-cell-transplantation-for-fanconi-anemia>
 15. Muro M, Álvarez M, Moya M. Histocompatibilidad en los trasplantes. [Internet] En: P. Parrilla, P. Ramirez, A. Rios, editor. Manual sobre donación y trasplante de órganos. 2008. [citado en mayo de 2018] p.603-616. Disponible en: <https://www.um.es/biomybiotec/web/Seminarios/2008/papers/MMuro3.pdf>
 16. Paulson R. In vitro fertilization Uptodate [Internet]. 2018 [citado en mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/in-vitro-fertilization>
 17. Río P, Navarro S, Guenechea G. Engraftment and in vivo proliferation advantage of gene corrected mobilized CD34+ cells from Fanconi anemia patients. Blood [Internet] 2017 [citado en mayo de 2018]. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/early/2017/08/11/blood-2017-03-774174/tab-article-info>
 18. Camille L, Amirache F, Girard A, Frecha C, Roman-Rodríguez FJ. Measles virus envelope pseudotyped lentiviral vectors transduce quiescent human HSCs at an efficiency

NUEVOS ESTUDIOS SOBRE LA TERAPIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

- without precedent. Blood [Internet] 2017 [citado en mayo de 2018] Vol 1(23): p2088-2104. Disponible en: <http://www.bloodadvances.org/content/1/23/2088/tab-article-info>
19. Banasik MB, McCray PB. Integrase-defective lentiviral vectors: progress and applications. Gene Therapy [Internet] 2010 [citado en mayo de 2018] Vol 17: p150-157. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/gt2009135>
20. Hansen, K., Coussens, M. J., Sago, J., Subramanian, S., Gjoka, M., Briner, D. Genome Editing with CompoZr Custom Zinc Finger Nucleases (ZFNs). J. Vis. Exp. [Internet] 2012 [citado en mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.jove.com/video/3304/genoma-edicin-con-compozr-nucleasas-de-dedos-de-zinc-personalizados?language=Spanish>
21. Eurordis [Internet]. París; 2009 [actualizado en 2014, citado en mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.eurordis.org/es/content/%C2%BFque-es-un-medicamento-huerfano>
22. Diez B, Genovese P, Román-Rodríguez FJ, Álvarez L, Schirotti G, Ugalde L et al. Therapeutic gene editing in CD34+ hematopoietic progenitors from Fanconi anemia patients. EMBO Mol Med [Internet] 2017 [citado en mayo de 2018] Vol 119: p1574-1588. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5666315/>
23. Soteras A. Anemia de Fanconi: Las células sanas se abren paso con la terapia génica. Efesalud. [Internet] 2018 [citado en mayo de 2018] Disponible en : <https://www.efesalud.com/anemia-de-fanconi-terapia-genica/>