



ESTADO ACTUAL DE LA TERAPIA GÉNICA

Marta Prat Gimeno, maprat@ucm.es
Trabajo de Fin de Grado. Grado en Farmacia.
Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid
Madrid, 19 de julio de 2019

INTRODUCCIÓN

- La **terapia génica** es “el conjunto de técnicas que permiten **vehicular secuencias de ADN** o de ARN al interior de **células diana**, con objeto de **modular la expresión** de determinadas proteínas que se encuentran alteradas, revirtiendo así el trastorno biológico que ello produce”.
- Se puede clasificar en terapia **in vivo** y **ex vivo**.
- Su **finalidad** es adicionar, suprimir, modificar o modular la respuesta de un gen.
- Las técnicas empleadas son la utilización de **virus** como vectores y las técnicas de **edición genética**.

OBJETIVOS

- Describir las diferentes **técnicas utilizadas** hasta la fecha.
- Describir sus **aplicaciones clínicas**, en especial, las aprobadas por las agencias regulatorias.
- Conocer la proyección y el **futuro** de la terapia génica en los próximos años.

METODOLOGÍA

- Búsqueda bibliográfica en PubMed (NCBI); palabras clave: “gene therapy”, “viral vectors”, “genome editing”, “T-CAR”.
- Revisión publicaciones de la AEMPS, EMA Y FDA.

TÉCNICAS EN TERAPIA GÉNICA

VIRUS COMO VECTORES – VIRUS ADENOASOCIADOS

Se han estudiado numerosas familias de virus como vectores (Fig. 1). Los que presentan las mejores características son los **virus adenoasociados** (AAV). Pertenecen al género *Parvovirus*. Presentan **tropismo natural** por algunos tejidos y muy **bajo potencial de replicación**.

	Retrovirus	Lentivirus	Virus adenoasociados
Virus	ARN	ARN	ADN
Capacidad	~ 8 kB	~ 10 kB	~ 5 kB
Inmunidad preexistente en receptor	No	No	Sí
Efectos adversos	Inserción mutagénica	Inserción mutagénica	Respuesta inmunoinflamatoria
Transmisión en células germinales	Frecuente	Sí	Poco Frecuente

Figura 1. Comparativa entre distintas familias de virus. Obtenido de *Gene therapy: advances, challenges and perspectives*. Einstein (São Paulo). 2017;15(3):369-375 ⁽¹⁾

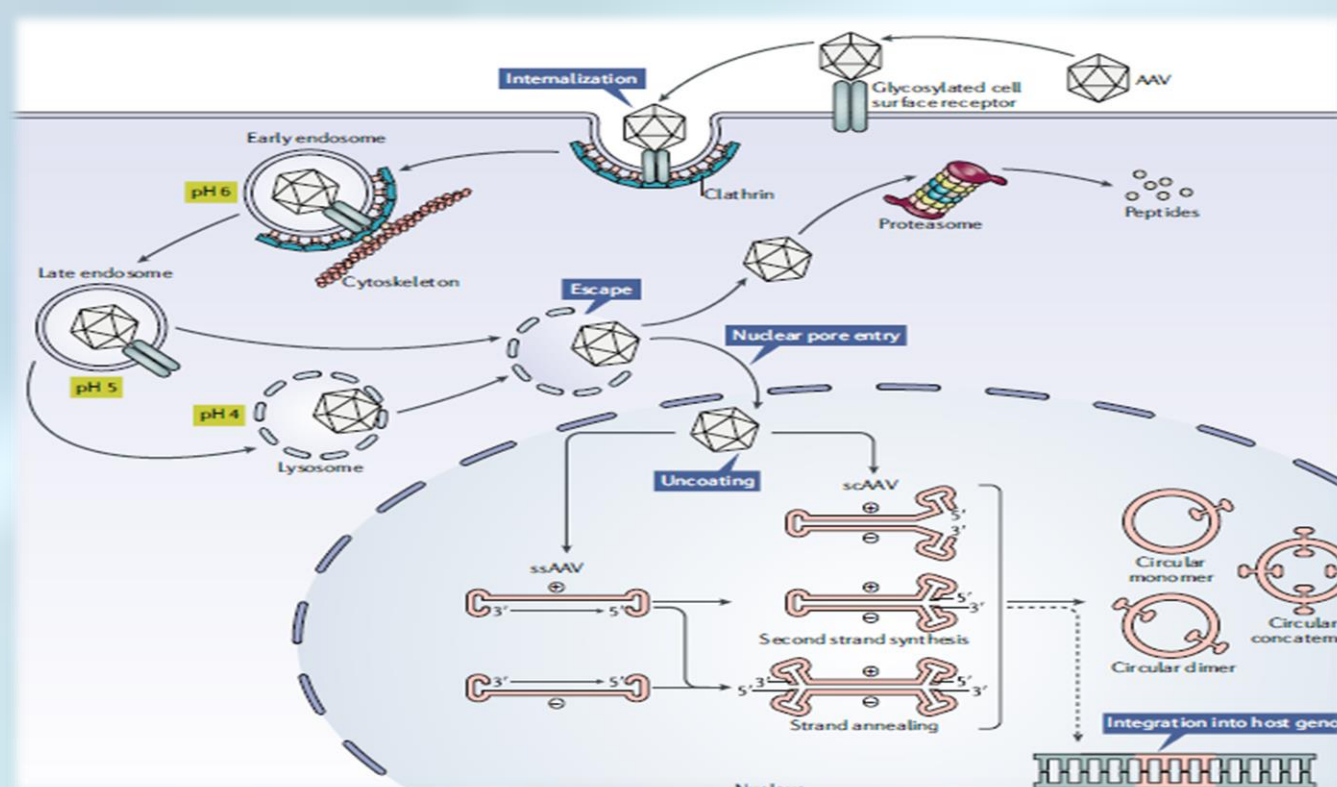


Figura 2. Vías de transducción de AAV en célula eucariota. Obtenido de *Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery*. Nature Reviews Drug Discovery. 2019;18(5):358-378 ⁽²⁾

EDICIÓN GENÉTICA

Estas técnicas se basan en los **mecanismos de reparación del ADN** en células eucariotas (Fig. 3). Mediante la acción de una **nucleasa** (Fig.4) se provoca un corte bicatenario (double stranded break - DSB) en el ADN de la célula y puede seguir dos vías:

- Unión de extremos no homólogos (NHEJ). Se **inactiva** un gen.
- Recombinación homóloga (HDR). Se **inserta** o se **sustituye** un gen.



Figura 3. Mecanismos de reparación del ADN en células eucariotas. Modificado de *Current Progress in Therapeutic Gene Editing for Monogenic Diseases*. Molecular Therapy. 2016;24(3):465-474 ⁽³⁾

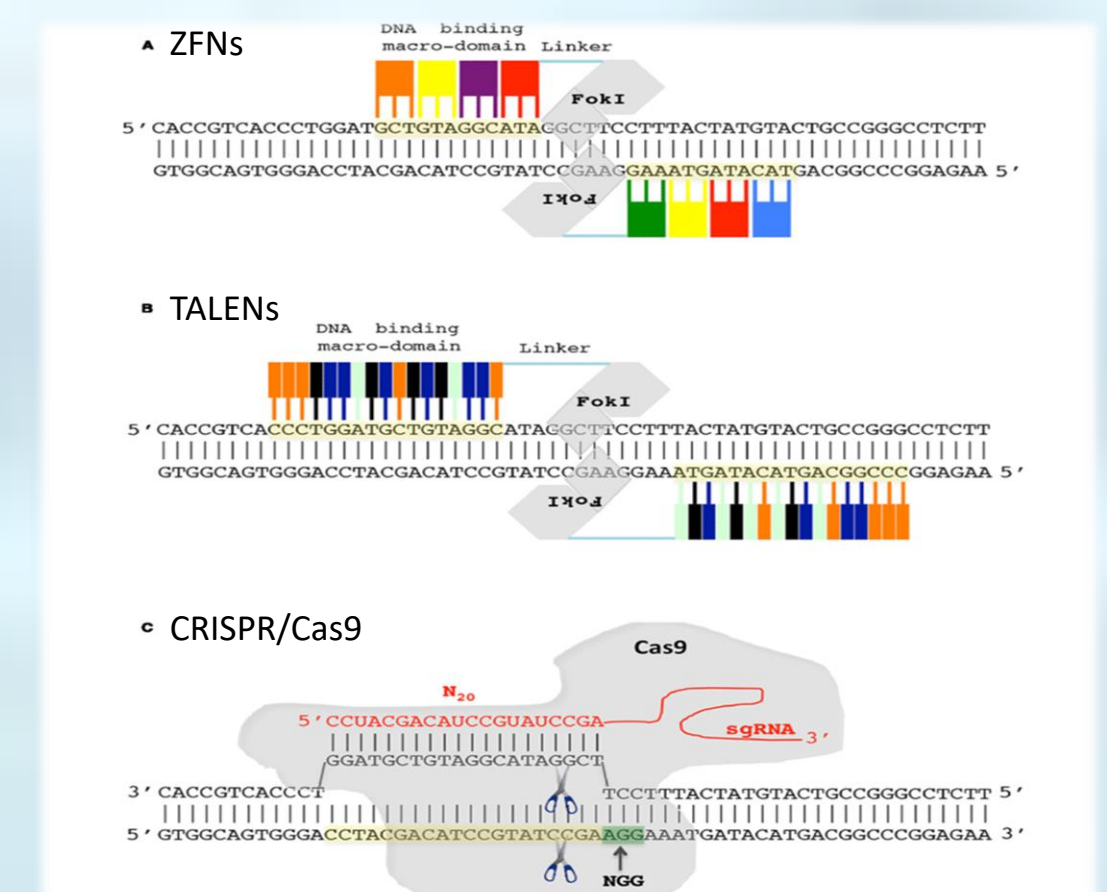


Figura 4. Tipos de nucleasas empleadas. Obtenido de *Biotechnological strategies and tools for Plum pox virus resistance*. Frontiers in Plant Science. 2015;6 ⁽⁴⁾

RETOS DE LA TERAPIA GÉNICA ACTUAL

- Los vectores virales pueden provocar **genotoxicidad** y reacciones de inmunogenicidad indeseadas.
- Las herramientas de edición génica deben de ser muy específicas para evitar la modificación del genoma en sitios distintos de las dianas terapéuticas (**off-target**).
- Limitaciones de **tamaño** de los complejos genéticos.
- Elevada carga necesaria para conseguir una **respuesta terapéutica**.
- Todavía no existen datos sobre su **seguridad a largo plazo**.
- Alto coste** de producción de cada tratamiento.
- Dificultades de **escalado**.
- Implicaciones éticas**.

TERAPIAS COMERCIALIZADAS

DEFICIENCIA DE LIPOPROTEÍNA LIPASA - GLYBERA®

La deficiencia de lipoproteína lipasa (DLPL) es una enfermedad genética hereditaria en la que el paciente carece o presenta niveles muy bajos de esta enzima. La lipoprotein-lipasa es la **primera enzima del metabolismo de los lípidos**.

Primer medicamento autorizado de terapia génica.

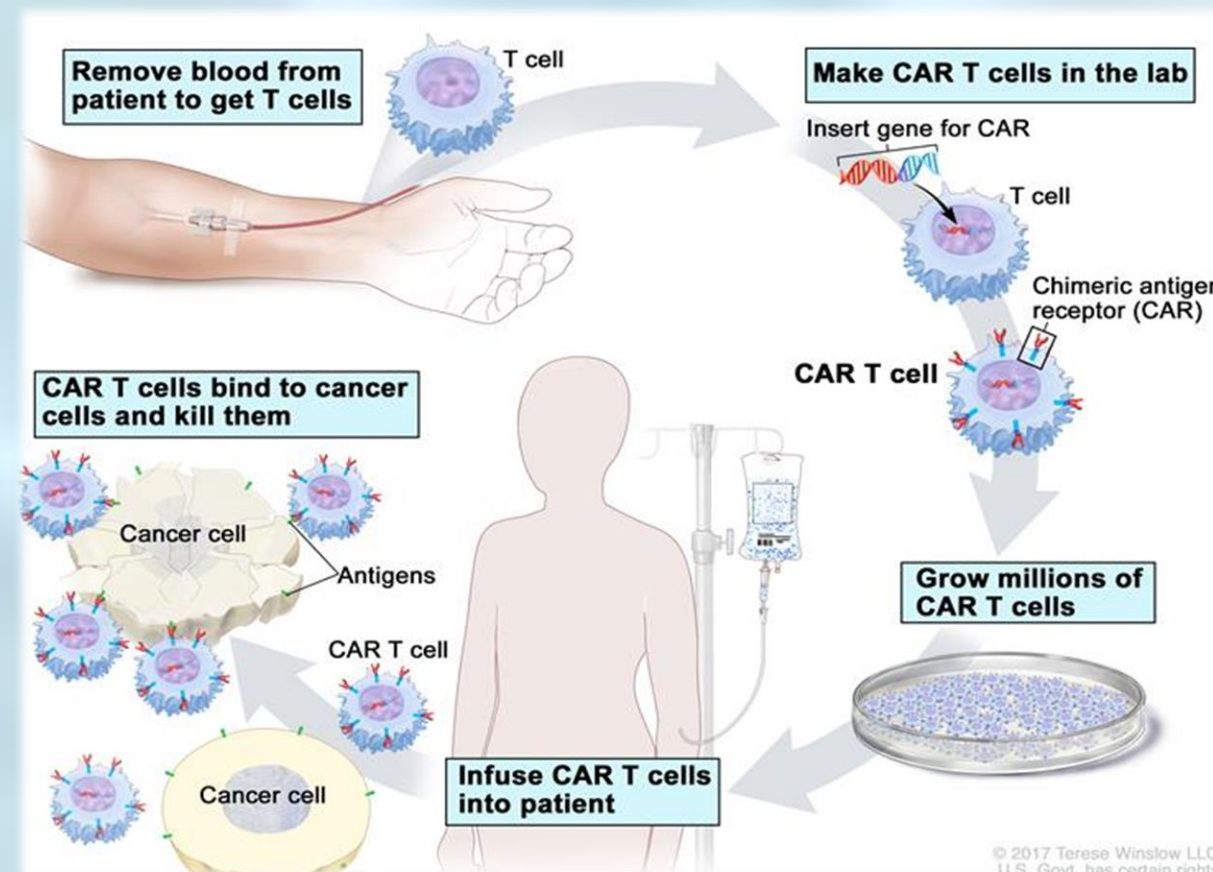
Aprobado el 25 de octubre de 2012. Indicación para el tratamiento de la DLPL en pacientes adultos que presentasen ataques graves o agudos de pancreatitis a pesar de llevar una dieta baja en grasas.

Glybera® contiene 3 x 10¹² copias genómicas de alipogén tiparvovec/ml solución inyectable. **AAV recombinantes** como vectores del gen de la lipoproteína lipasa humana.

De administración **intramuscular**.

Actualmente no está comercializado.

Figura 5. Terapia celular con CAR-T. Obtenido de *CAR T Cells: Engineering Immune Cells to Treat Cancer*. National Cancer Institute. 2019⁽⁵⁾



CÉLULAS CAR-T – KYMRIAH® - YESCARTA®

Linfocitos T modificados genéticamente que expresan el **receptor de antígeno quimérico** (CAR). Se extraen linfocitos T del paciente. Se modifican con un lentivirus (Kymriah®) o un retrovirus (Yescarta®).

El vector contiene un gen que codifica para el punto de unión del **anticuerpo específico para CD19**, un dominio coestimulador de linfocitos T y un dominio intracelular para iniciar la señalización de la célula T. Se reintroducen los linfocitos CAR-T modificados en el paciente por **perfusión** (Fig. 5). Es necesario que el paciente reciba una quimioterapia de **inmunodeplección** previa a la administración.

Están indicados en **tumores de células B en recaída o refractarios**: leucemia aguda linfoblástica de células B (LAL-B) (Kymriah®), linfoma difuso de células B grandes (LBDCG) (Kymriah® y Yescarta®) y linfoma B primario mediastínico de células grandes (LBPCG) (Yescarta®).

CEGUERA HEREDITARIA - LUXTURNA®

La proteína de 65 kd específica del epitelio pigmentario retinal (RPE65) se localiza en las células epiteliales de la **retina** y participa en las reacciones que transforman una señal luminica en una señal eléctrica en la retina. El defecto genético de esta proteína causa ceguera hereditaria y está relacionado con otras patologías oculares como retinosis pigmentaria o amaurosis congénita de Leber.

Se autorizó el 22 de noviembre de 2018. con indicación en “el tratamiento de adultos y niños con pérdida de visión debido a una distrofia retiniana asociada a la **mutación RPE65** bialélica confirmada y que tienen suficientes células retinianas viables”.

Luxturna® contiene 5 x 10¹² genomas vectoriales de voretigén neparvovec/ml de solución. **AAV recombinantes** que contienen el gen de RPE65.

Su administración es por una única inyección **intraretiniana** en cada ojo (Fig. 6).

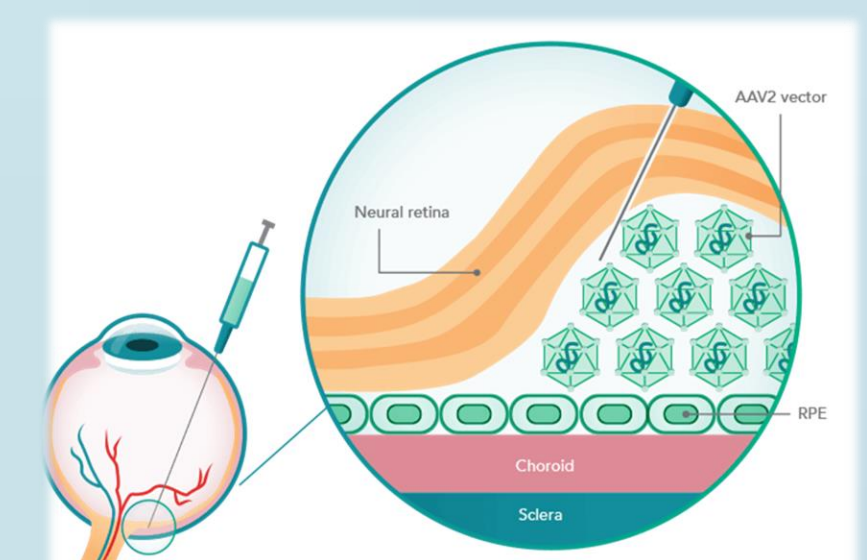


Figura 6. Administración de Luxturna®. Obtenido de *Mechanism of Action | LUXTURNA™ (voretigene neparvovec-rzyl) HCP 2019*⁽⁶⁾

ATROFIA MUSCULAR ESPINAL - SPINRAZA®

La atrofia muscular espinal es una patología neuromuscular que aparece a los pocos meses de vida que cursa con una rápida progresión y corta esperanza de vida. Está relacionada la presencia de mutaciones en el gen de **supervivencia de la neurona motora** (SMN).

Aprobado el 30 de mayo de 2017.

El principio activo de es **nusinersén**, un **nucleótido antisentido** que se une al pre-ARN mensajero del gen SMN. La unión provoca que se exprese en el ARNm un exón adicional que permite la traducción de la proteína SMN completa y funcional.

Spinraza® se administra por **vía intratecal** por punción lumbar.

En junio de 2019 la FDA ha aprobado **Zolgensma®**, nuevo fármaco con AAV con el gen SMN.

CONCLUSIONES

- Las técnicas que emplea la terapia génica se basan en el empleo de técnicas biotecnológicas como las **herramientas de edición génica** y el conocimiento de los **mecanismo de acción de los virus**.
- Existen fármacos comercializados para el **tratamiento de enfermedades de origen monogénico y de neoplasias hematopoyéticas**. Están en curso numerosos **ensayos clínicos** con fármacos obtenidos mediante terapia génica para numerosas patologías.
- La terapia génica es un campo que todavía **se encuentra en una primera etapa de desarrollo**. En la actualidad presenta importantes **limitaciones**, pero los resultados de los ensayos clínicos son alentadores y prometen un gran avance en el tratamiento de patologías de origen genético. El desarrollo de nuevas técnicas y un mayor conocimiento de los mecanismos permitirán el cada vez más **rápido crecimiento de esta disciplina**.

BIBLIOGRAFÍA

- Gonçalves G, Paiva R. Gene therapy: advances, challenges and perspectives. Einstein (São Paulo). 2017;15(3):369-375
- Wang D, Tai P, Gao G. Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. Nature Reviews Drug Discovery. 2019;18(5):358-378
- Prakash V, Moore M, Yáñez-Muñoz R. Current Progress in Therapeutic Gene Editing for Monogenic Diseases. Molecular Therapy. 2016;24(3):465-474
- Ilardi V, Tavazza M. Biotechnological strategies and tools for Plum pox virus resistance: trans-, intra-, cis-genesis, and beyond. Frontiers in Plant Science. 2015;6
- CAR T Cells: Engineering Immune Cells to Treat Cancer. National Cancer Institute. 2019
- Mechanism of Action | LUXTURNA™ (voretigene neparvovec-rzyl) HCP 2019
- Dunbar C, High K, Joung J, Kohn D, Ozawa K, Sadelain M. Gene therapy comes of age. Science. 2018;359(6372)