

LA TERAPIA GÉNICA

Alfonso García Orellana

Investigador

Resumen

La terapia génica recoge los tratamientos encargados de modificar el genoma de un individuo, haciendo frente a retos tan notables como su utilización frente al cáncer. Sus orígenes se remontan al siglo pasado con el auge de la biología molecular. Aunque se encuentra principalmente en fase experimental, se espera que pronto pueda ser introducida a la clínica como herramienta rutinaria para el tratamiento de pacientes con enfermedades genéticas. Se basa en la eliminación, inserción o modificación de genes con el fin de tratar o eliminar el rastro de la enfermedad genética en el individuo. Para ello se utilizan vectores virales o no virales, así como sistemas complejos de edición génica. El avance de nuevos tratamientos, como las células CAR-T en pacientes con cáncer, está suponiendo una revolución biomédica, capaz incluso de sustituir métodos más convencionales en clínica, como la quimioterapia o la radioterapia.

Abstract

Gene therapy involves treatments which can modify and individual's genome, facing challenges as remarkable as cancer. Its origins date back to last century with molecular biology's boom. Even though it is principally in experimental phase, it is expected to be introduced to clinics as an everyday tool for the treatment of patients suffering from genetic diseases very soon. It's based on the elimination, insertion, or modification of genes, trying to treat or eliminate any trace of disease. The tools involved are viral or non-viral vectors, as well as gene editing systems. The advancement of new treatments, such as CAR-T cells in cancer patients, is leading to a biomedical revolution, capable of replacing more conventional methods, such as chemotherapy or radiotherapy.

1. Introducción

La genética es el origen de todo lo que conocemos, por lo que es natural que el hombre a lo largo de la historia haya querido indagar en ella. Gregor Mendel, considerado padre de la genética, declaró que la ciencia había que hacerla con los mismos ingredientes con los que se puede hacer una sopa. Así es como él estableció las reglas básicas de la transmisión de la herencia genética, experimentando con una planta de guisantes. Hoy en día, se utilizan organismos más complejos que una planta de guisantes, sin embargo, se siguen teniendo muy presentes esos experimentos que un día Mendel llevó a cabo.

1.1. Definición e historia

La genética ha crecido a pasos agigantados en el último siglo. Fue a raíz de los experimentos con ADN recombinante en los años 60 que se introdujo por primera vez el término “terapia génica”. Se observó, mediante los experimentos de la Dra. Kraus, de la Universidad de Tennessee, que se podía alterar el gen de la hemoglobina en células de la médula ósea de una paciente con anemia falciforme¹. Esto revolucionaría la investigación biomédica, sin embargo, no fue hasta 1990 cuando se realizó el primer ensayo clínico de terapia génica exitoso, por los Doctores Anderson, Blaese y Rosenberg. La paciente era una niña de 4 años con una inmunodeficiencia grave debida a una mutación en el gen de la enzima adenosina desaminasa (ADA). El tratamiento consistió en la introducción del gen ADA en linfocitos T extraídos de la paciente y cultivados *ex vi-*

vo, refundiéndolos posteriormente en su organismo².

Es un hecho que el campo de la terapia génica ha ganado muchísima atención recientemente, con un gran potencial que ha sido reconocido tanto por desarrolladores como inversores. Cada año aumenta la inversión destinada a este tipo de terapias, incrementando por días el número de ensayos clínicos aprobados, con resultados que colman las portadas de la prensa internacional. Desde ese primer ensayo hasta hoy, se han aprobado más de 2.500 ensayos clínicos de terapia génica. Para el año 2030 se estima que hasta 15,68 billones de dólares serán destinados al desarrollo de este tipo de terapias (Fig. 1).

Existe una gran variedad de definiciones para la “terapia génica”. Según la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos), se trata de “una técnica que modifica los genes de una persona para tratar o curar una enfermedad”³. En un sentido más estricto, Juan Ramón Lacadena⁴ la define como “una técnica terapéutica mediante la cual se inserta

¹ Megía, R. M. G. (2022). Historia de la Terapia génica. Genotipia. <https://genotipia.com/historia-de-la-terapia-genica/>

² Strachan, T. & Read, A. P. (1999). Genética molecular humana, op. cit., p. 617.

³ ¿Qué es la terapia génica? ¿Cómo funciona? (2017). U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/consumers/articulos-para-el-consumidor-en-espanol/que-es-la-terapia-genetica-como-funciona>

⁴ Lacadena, J. R. (1999). Terapia génica. Centro Nacional de Información y Comunicación Educativa. http://www.cnice.es/tematicas/genetica/1999_04_01.html, p. 1.

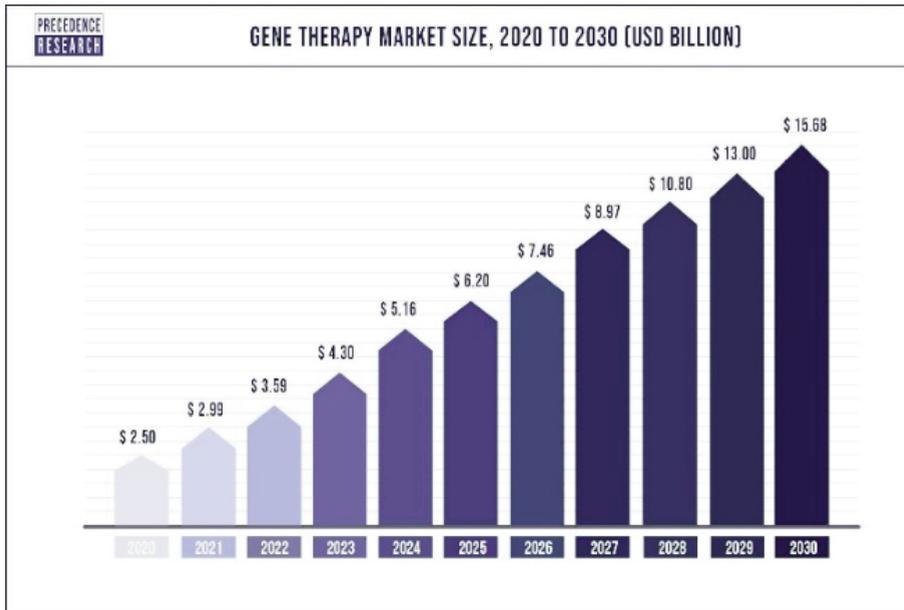


Figura 1. Representación gráfica con estimación del aumento del mercado de la terapia génica en los próximos años. Fuente: Precedence Research.

un gen funcional en las células de un paciente humano para corregir un defecto genético o para dotar a las células de una nueva función”, lo que permite realizar una distinción entre “genes defectuosos” y “genes sanos”, entre “programa genético defectuoso” y “funcionamiento genético correcto”. A nivel molecular este procedimiento es más complejo, pudiendo encontrar muchas más aplicaciones.

En principio, estas terapias se destinaban al tratamiento de enfermedades monogénicas (enfermedades en las que solo está afectado un gen). En el caso de una enfermedad recesiva (ambas copias de un gen están alteradas), se introduce el “gen sano”, que coexiste con el mutado, sin que éste último interfiera en su funcionalidad. Esta técnica recibe el nombre de inserción

génica o terapia de aumento génico (GAT)⁵. Por el contrario, para enfermedades dominantes (solo hace falta que una copia del gen esté alterada para manifestar la enfermedad), habría que inactivar el gen mutado o “defectuoso” mediante la técnica de corrección dirigida de mutaciones (*gene targeting*)⁵. Es decir, todas estas técnicas abarcan desde la adición o supresión de un gen hasta la modificación o regulación de un gen o grupo de genes⁶.

⁵ Soutullo, D. (s.f.). Terapia génica ayer y hoy. Web de la Universidad de Granada. https://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/tgdaniel.htm#_Toc22706635

⁶ Dunbar C., High K., Joung J., Kohn D., Oza-wa K., Sadelain M. (2018). Gene therapy comes of age. *Science*, 359(6372). <https://doi.org/10.1126/science.aan4672>.

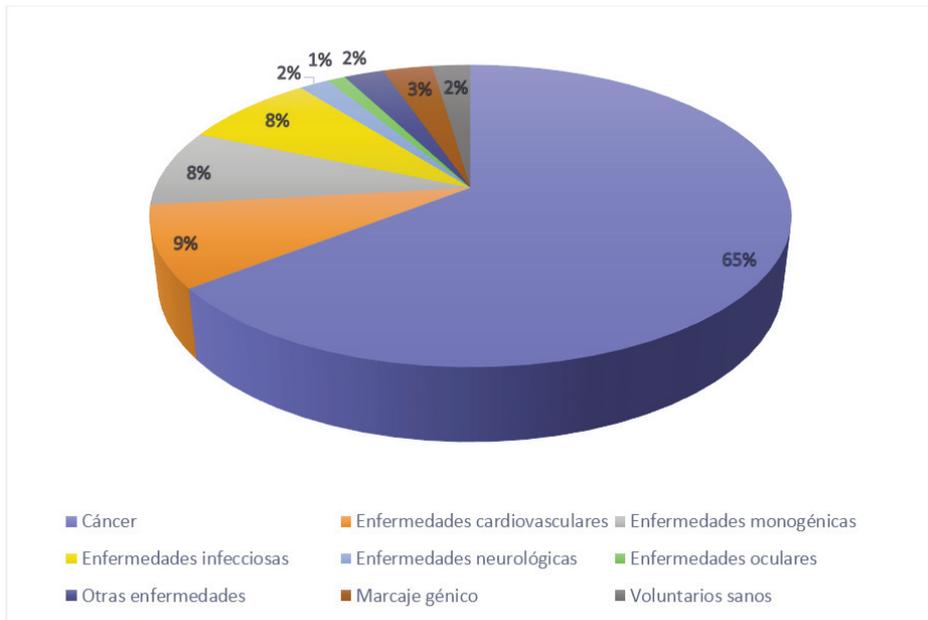


Figura 2. Ensayos de terapia génica por enfermedades. Fuente: Linden, R. (2013). Gene therapy: what it is, what it is not and what it will be. *Estudios Avanzados* 24.

Los procedimientos de edición genómica, como CRISPR-Cas9 (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-CRISPR associated protein 9*), han encauzado, en gran medida, el avance de las terapias génicas, pudiendo abordar un espectro más amplio de enfermedades (Fig. 2); no solo las monogénicas. A su vez, la maduración de las medidas de seguridad, la eficiencia de la transferencia génica y el desarrollo de sistemas biotecnológicos innovadores ha resultado en unos protocolos dirigidos más fiables y competentes⁷.

Las distintas alteraciones y mutaciones genómicas pueden desarrollar desbalances en las vías metabólicas, en la estructu-

ra y la homeostasis celular, en la maquinaria del tráfico de sustancias intracelular, etc. Estos trastornos no pueden tratarse con las vías farmacológicas básicas, a menudo centradas en el silenciamiento de síntomas; por ello, cabe pensar que solamente la terapia génica puede ofrecer una solución frente a estas enfermedades⁸.

⁷ Gene Therapy Development for Disease (s.f.). Creative Biolabs. <https://www.creative-biolabs.com/gene-therapy/gene-therapy-development-for-disease.htm>

⁸ E. Cevher, A.D. Sezer, E. Çağlar. (2012). Gene delivery systems: recent progress in viral and non-viral therapy, *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems*, 437–470.

1.2. Tipos de terapias

Debido a la amplitud del tema, vamos a establecer 3 clasificaciones distintas (Fig. 3). La primera de ellas será en función de la célula sobre la que se trabaje:

- **Terapia génica germinal:** está dirigida a modificar genéticamente células implicadas en la formación de óvulos y espermatozoides. Debido a la dotación haploide de estas células (una sola copia del material genético), cualquier cambio en el genoma es permanente y transmisible a la descendencia, por lo que los efectos terapéuticos se manifestarían sobre los descendientes⁹. Esta terapia podría evitar que generaciones futuras de una familia presentasen defectos genéticos particulares, sin embargo, también podría tener efectos secundarios sobre la descendencia. La legislación actual prohíbe esta técnica en humanos, ya que no se ha podido demostrar, con la suficiente evidencia científica, que sea eficaz y segura. A su vez, la terapia germinal está rodeada de infinidad de dilemas éticos, basados principalmente en el peligro que puede suponer para el acervo genético humano, que dificultan más aún su práctica en el ser humano¹⁰.
- **Terapia génica somática:** está dirigida a la modificación genética de células somáticas, es decir, de las células constituyentes de nuestro organismo, exceptuando las germinales. Estas células tienen dotación diploide (dos copias del material genético) y no pertenecen a la línea germinal, por lo que los cambios en el genoma no se transmiten a la descendencia⁹ y los efectos terapéuticos se limitan al individuo

tratado, careciendo de consecuencias hereditarias. Este tipo de terapia si está amparada por la legislación actual, exceptuando aquellos casos en los que se trate de aplicar ingeniería genética de potenciación, es decir, aquellos casos en los que se traten de potenciar caracteres ajenos a enfermedad, como la altura, el color de ojos, etc.

Dentro de la terapia génica existen 2 pasos esenciales: la transferencia de los genes a las células diana y la propia expresión de éstos, que reciben el nombre de transgenes¹¹. La siguiente clasificación, por tanto, se basa en el método de transferencia:

- **Terapia génica *in vivo*:** los genes son introducidos en el paciente a través de vectores, normalmente virus o plásmidos. Cuando el vector de transferencia es viral el procedimiento se denomina transducción.
- **Terapia génica *ex vivo*:** los genes son transferidos a células del paciente cultivadas. Una vez realizada la transmisión, las células son reintroducidas en el paciente. Un ejemplo de una terapia génica *ex vivo* es la técnica CAR-T, usada en la actualidad en gran variedad de tratamientos contra el cáncer.

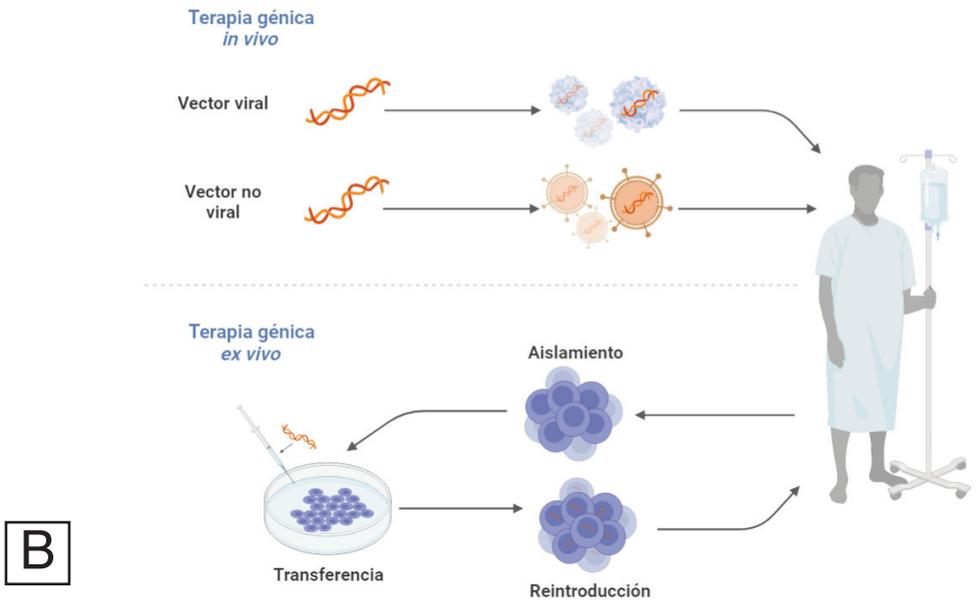
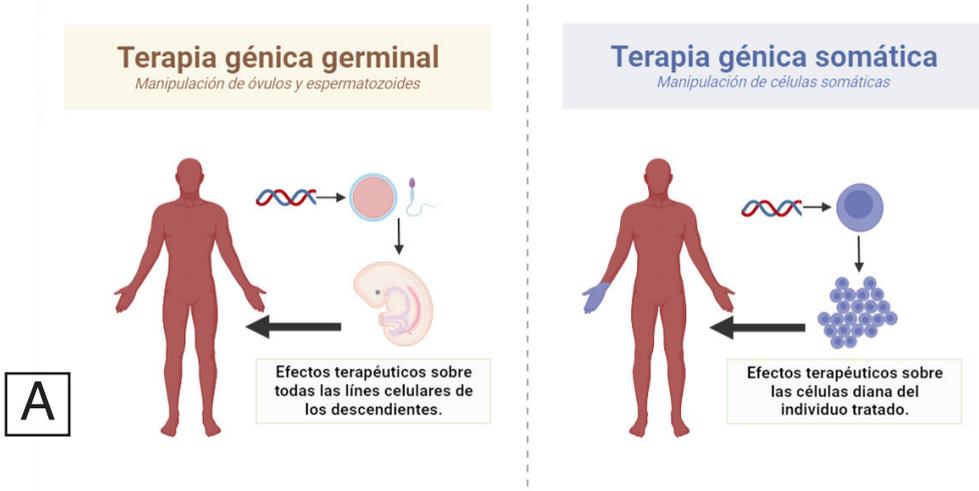
⁹ Ronchera, C. & González, J.M. (2002). Terapia Génica. Farmacia Hospitalaria, 2, 925. <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo2/CA/P06.pdf>

¹⁰ Greely, H. T. (2001). Ethical Issues in the 'New' Genetics. Elsevier eBooks (pp. 4762-4770). <https://doi.org/10.1016/b0-08-043076-7/03364-7>.

¹¹ Ruiz Castellanos, M., & Sangro, B. (2005). Terapia génica: ¿Qué es y para qué sirve?, Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 28(1), 17-27. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113766272005000100002&lng=es&tlng=es.

La última vía clasificatoria viene dada en base a los objetivos de la terapia génica, pudiendo ser con fines médicos, como la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades con base genética, o con fines no médicos, como es el caso de algu-

nas ramas de la ingeniería genética, con la finalidad de la mejora de caracteres o eugenesia, pero, como hemos mencionado anteriormente, esos fines quedan fuera del marco legal, por lo que hoy en día se considera una pseudociencia.



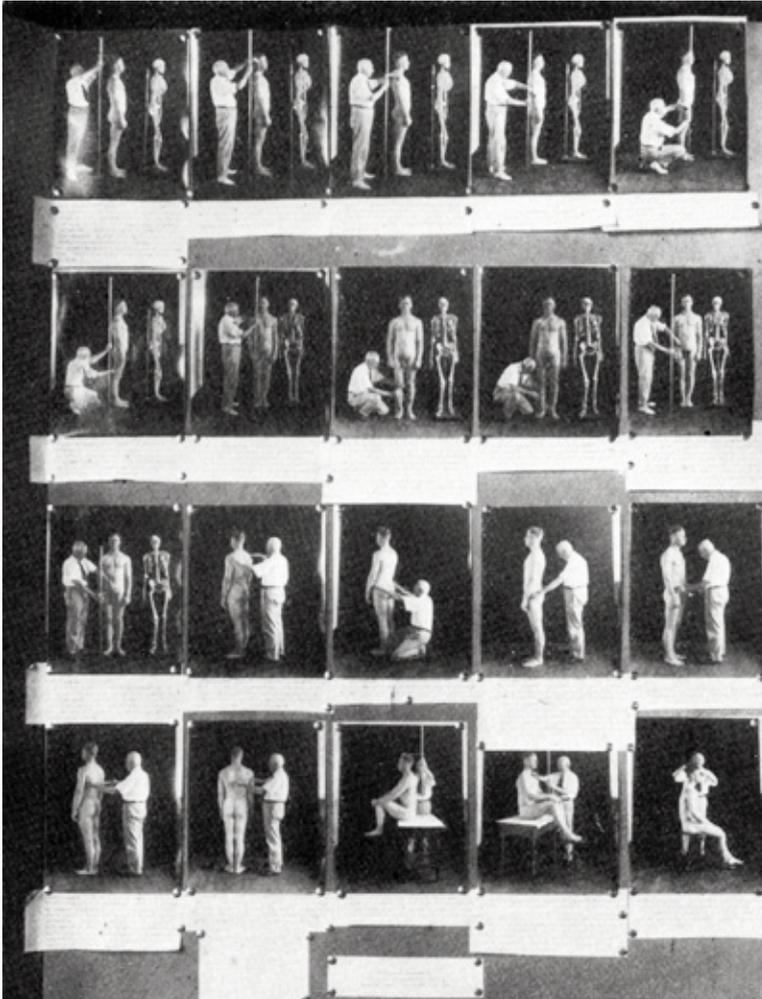


Figura 3. A) Diferencias entre las terapias génicas germinal y somática. B) Diferencias entre las terapias génicas *in vivo* y *ex vivo*. C) Harry H. Laughlin, considerado experto en eugenesia, tomando medidas a distintos individuos inmigrantes para ofrecer pruebas estadísticas en el Congreso de los Estados Unidos con el fin de promover la eugenesia. Fuente: NBC News.

1.3. Procedimiento y vectores

1.3.1. Procedimiento

La terapia génica presenta principalmente tres facetas, empleándose en cada una de ellas procedimientos distintos. La

primera de ellas corresponde al silenciamiento génico mediante secuencias específicas como el ARN pequeño de interferencia (siRNA), el ARN de horquilla corta (shRNA) o el micro-ARN; todos ellos interfieren y regulan la expresión de

genes diana. La segunda vía posible es el reemplazo génico, mediante la administración directa de vectores como los plásmidos o los virus. Dentro del proceso de selección del vector más apropiado se encuentra su capacidad de unión e introducción a la célula diana, su habilidad para transferir el gen, el nivel de expresión del gen una vez se ha incorporado a la célula y la ausencia de toxicidad¹². La última opción es la edición génica mediante nucleasas específicas que escinden nucleótidos seleccionados de los ácidos nucleicos, es decir, rompe la secuencia “defectuosa” y la sustituye por la secuencia del “gen sano”¹³. La vía de edición génica más reconocida hoy en día es la de CRISPR-Cas9.

La pandemia de la COVID-19 ha repercutido globalmente en todos los aspectos de importancia internacional, especialmente en el ámbito económico y sanitario. Sin embargo, el desarrollo y autorización de las distintas vacunas de ARNm podría tener importantes beneficios respecto al avance en terapia génica y su procedimiento, abriendo una nueva vía de investigación centrada en la entrega de material genético a la célula de manera eficiente; manteniendo el material genético intacto y evitando su degradación antes de alcanzar la célula diana. El modelo usado para las vacunas de ARNm contra la COVID-19 fue el de nanopartículas lipídicas, suponiendo un vector más seguro, económico y efectivo que los vectores virales comúnmente usados en terapia génica. A su vez, nuevas vacunas de ADN están siendo desarrolladas, sin embargo, con peores resultados y pronósticos que

las vacunas de ARNm. Estos avances biotecnológicos podrían resolver uno de los mayores enigmas encontrado en los ensayos clínicos de terapia génica, que es la entrega y procesamiento celular del material genético de estudio. El descubrimiento de nuevos vectores seguros no solo podría abaratar los costes, sino que también permitiría realizar de manera íntegra la entrega de los ácidos nucleicos a la célula, sin perder nada de información genética en el camino¹³.

Como se mencionó anteriormente, el sistema de entrega del material genético es esencial y, es por ello por lo que se han de priorizar ciertos criterios a la hora de elegir un sistema, entre los que se encuentran: evitar la interacción con tejido endotelial y células sanguíneas, ya que podrían detectar y reaccionar contra la molécula de ácido nucleico para posteriormente degradarla; evitar el sistema reticuloendotelial, con el fin de no causar reacción en células derivadas de precursores monocíticos de la médula ósea; y, por último, encontrar el tamaño adecuado para atravesar la membrana celular y alcanzar el núcleo. Este último criterio se ve facilitado por distintos métodos que facilitarían

¹² Sierra-Delgado, J. A., Bautista-Niño, P. K., Vargas-Castellanos, C. I., Díaz, N. B., & Rincon, M. Y. (2019). Immune response and gene therapy with adenoassociated viral vectors. *PubMed*, 79(6), 493-501. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31829952>

¹³ Sayed, N., Allawadhi, P., Khurana, A., Singh, V., Navik, U., Pasumarthi, S. K., Khurana, I., Banothu, A. K., Weiskirchen, R., & Bharani, K. K. (2022). Gene therapy: comprehensive overview and therapeutic applications. *Life Sciences*, 294, 120375. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120375>

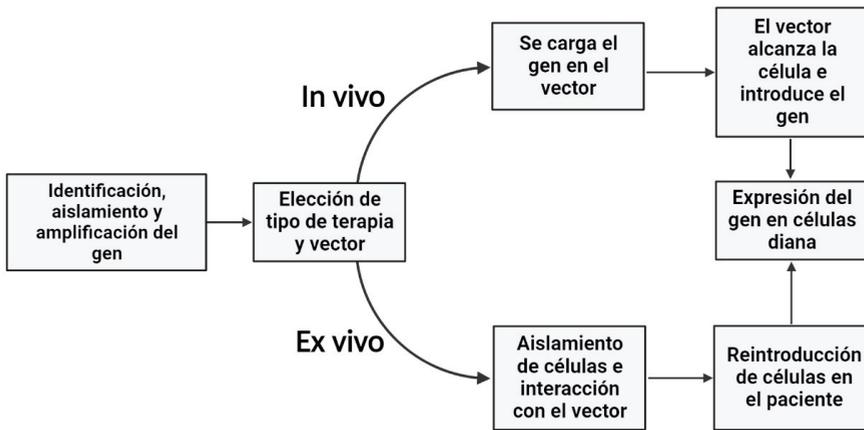


Figura 4. Protocolo habitual de terapia génica.

el paso del material genético a través de la membrana plasmática. Entre ellos se encuentran métodos físicos, como la electroporación, métodos químicos, como el uso de nanopartículas catiónicas y métodos biológicos, como el uso de vectores virales¹⁴.

Aunque no hay un método estándar, el protocolo habitual en terapia génica se basa en un primer estudio exhaustivo del gen a tratar, con su identificación, aislamiento y amplificación. Una vez analizado y procesado el gen, las células del individuo se extraen, se aíslan y se cultivan *in vitro* en un medio adecuado para su mantenimiento y modificación genética (terapia génica *ex vivo*, que es la más común hoy en día). El siguiente paso es el de la transferencia del gen mediante un vector a las células cultivadas y la posterior comprobación de que efectivamente el gen se ha introducido y expresado de manera correcta en las células del individuo. Esto se realiza mediante la introducción de algún marcador que permita discriminar aquellas células que

han introducido el gen de aquellas que no lo han introducido. Comúnmente se usa un gen de resistencia a fármacos, ya que con la simple exposición al agente farmacológico se pueden observar las células que han incorporado el gen, que son las que sobreviven, y las que no, que sufren muerte celular. Según el Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP), en este paso debe evitarse el uso de marcadores de resistencia a antibióticos, aceptándose su uso solo en situaciones justificadas. Una vez realizada esta comprobación, se reintroducen las células en el paciente y se realiza un seguimiento para verificar que la terapia surge efecto¹⁵.

¹⁴ Ibraheem, D., Elaissari, A., & Fessi, H. (2014). Gene therapy and DNA delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 459(1-2), 70-83. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.11.041>

¹⁵ Soutullo, D. (s.f.). Terapia génica ayer y hoy. Web de la Universidad de Granada. https://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/tgdaniel.htm#_Toc22706635

1.3.2. Vectores

El éxito de la terapia génica depende en gran parte de una correcta entrada del gen en la célula diana, evitando cualquier tipo de biodegradación por nucleasas del medio. La complicación de este paso es que el ADN es una macromolécula muy sensible, por lo que una correcta asociación del material genético con el vector podría suponer prácticamente el éxito de la terapia¹⁶.

Seleccionar una estrategia correcta para que el gen de estudio alcance la célula diana específica es fundamental en terapia génica. Para conseguir este cometido se distinguen dos categorías distintas de vectores: los virales y los no virales. A la hora de seleccionar un vector hay que tener en cuenta que sea seguro, eficiente y factible. Cada vector presenta una serie de ventajas y desventajas; además, no existe un vector estándar para cualquier tipo de terapia génica y, es por ello por lo que la selección del vector idóneo es esencial para el correcto desarrollo del tratamiento (Fig. 5).

Los vectores virales son manipulados genéticamente para eliminar sus genes de patogenicidad, que son los que causan la enfermedad, sustituyendo esos genes por el gen de interés. Es decir, se realiza una delección en cualquier gen causante de enfermedad y se mantienen los genes necesarios para la unión a la célula hospedadora, proliferación y ensamblaje del virus. Algunos ejemplos de vectores virales son los adenovirus (virus causante de resfriados, conjuntivitis, bronquiolitis y neumonía), los virus adenoasociados (no está

asociado a ninguna enfermedad humana), retrovirus (virus causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida o SIDA y algunos tipos de cánceres) y virus del herpes simple (virus causante de herpes bucal o genital, entre otras enfermedades), etc. Se prioriza a la hora de seleccionar un vector viral su capacidad para incorporarse al núcleo celular y depositar el material genético. Ciertas propiedades como el tamaño del material genético o la enfermedad a tratar también se tienen en cuenta respecto a la elección del vector^{17,18,19}.

Entre las ventajas principales del uso de vectores virales se encuentran su seguridad, ya que al eliminar los genes que producen enfermedad se reducen en gran medida las posibilidades de que el paciente contraiga alguna enfermedad causada por el virus; su eficiencia, debido a que distintos estudios han demostrado que los vectores virales suelen ser los vectores de elección debido a su gran capacidad de transducir correctamente los transgenes; y, por último, las décadas de investigación que los escolta, siendo unos vectores bien estudiados. Todo ello hace que muchos ensayos clínicos con vectores virales hayan desenlazado con resultados muy positivos¹⁷.

¹⁶ Ibraheem, D., Elaissari, A., & Fessi, H. (2014). Gene therapy and DNA delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 459(1-2), 70-83. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.11.041>

¹⁷ Osborne, A. (2022). Gene Therapy and the Big Debate: Viral Vectors Vs Non-Viral Vectors. *Phacilitate*. <https://www.phacilitate.com/blog-gene-therapy-and-the-big-debate-viral-vectors-vs-non-viral-vectors/>

Entre sus desventajas, principalmente destaca sus efectos secundarios. Aunque estos vectores no tengan la capacidad de causar infección, su naturaleza viral hace que el sistema inmune del paciente lo pueda detectar como un antígeno peligroso, provocando una respuesta inmune tanto innata como adaptativa, lo que complica a su vez posteriores tratamientos con vectores virales sobre el mismo paciente, ya que los linfocitos B de memoria generarían una respuesta mucho más efectiva y potente frente a los vectores virales. Además, muchos autores confirman que estos vectores también pueden causar citotoxicidad, es decir, pueden ser tóxicos para la propia célula, y mutagénesis insercional, que es una mutación provocada por la propia inserción de ADN extraño en la secuencia génica, en este caso, el del virus. Distintos estudios están tratando de solventar estos problemas, mediante el análisis de la interacción del sistema inmune con distintos vectores virales, observando cómo se están desarrollando mediante ingeniería genética cápsides que protegen al virus de este ataque. Otros inconvenientes son el proceso de producción (muy costosos y requieren gran especialización) o la desconfianza que pueden producir los tests en modelos animales (no se produce la misma reacción en los modelos que en los humanos)²⁰.

Los vectores no virales son considerados simples en teoría, pero complejos en la práctica. Son muchas las barreras a las que se enfrentan este tipo de vectores, muchas más que los vectores virales, desde barreras intracelulares hasta extracelu-

lares. Hoy en día, se está tratando de optimizar el procesamiento de los vectores no virales, sin embargo, la realidad es que los vectores virales siguen manteniéndose como los principales protagonistas en terapia génica, con muchas menos dificultades a la hora de introducirse en el mercado farmacológico. Algunos ejemplos de estos vectores son polímeros, lípidos, péptidos, partículas inorgánicas o sistemas híbridos. Se usan técnicas variadas como el bombardeo de partículas, la inyección directa del ADN o la transferencia mediante receptores^{20,21,22,23}.

Como los vectores virales, los no virales también tienen sus ventajas y desventajas. Entre las ventajas se puede destacar que podría tener una acogida comercial

¹⁸ Jahangiri, S., Rahimnejad, M., Boroujeni, N. N., Ahmadi, Z., Fath, P. M., Ahmadi, S., Safarkhani, M., & Rabiee, N. (2022). Viral and non viral gene therapy using 3D (bio)printing. *The Journal of Gene Medicine*, 24(12). <https://doi.org/10.1002/jgm.3458>

¹⁹ Vera, O. L. (2006). Terapia génica. *Medicina Interna de México*, 22. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2006/mim065j.pdf>

²⁰ Osborne, A. (2022). Gene Therapy and the Big Debate: Viral Vectors Vs Non-Viral Vectors. *Phacilitate*. <https://www.phacilitate.com/blog-gene-therapy-and-the-big-debate-viral-vectors-vs-non-viral-vectors/>

²¹ Jahangiri, S., Rahimnejad, M., Boroujeni, N. N., Ahmadi, Z., Fath, P. M., Ahmadi, S., Safarkhani, M., & Rabiee, N. (2022). Viral and non viral gene therapy using 3D (bio)printing. *The Journal of Gene Medicine*, 24(12). <https://doi.org/10.1002/jgm.3458>

²² Vera, O. L. (2006). Terapia génica. *Medicina Interna de México*, 22. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2006/mim065j.pdf>

²³ Ramamoorth, M., & Narvekar, A. (2015). Non viral vectors in gene therapy- an overview. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2015/10443.5394>

	Retrovirus	Adenovirus	Virus adenoasociados	No virales
Eficiencia de la transferencia	Moderada	Alta	Moderada	Baja
Largo vs corto plazo	Largo	Corto	Largo	Corto
Expresión del gen	Variable dependiendo del tipo celular y de los promotores			
Inmunogenicidad	Baja	Moderada	Largo	Corto
Toxicidad in vitro	Baja			
Dosis	Baja, requiere replicación celular	Alta	Complicaciones en dosis alta, requiere replicación viral	Variable

Figura 5. Tabla comparativa de los vectores virales más comunes en terapia génica.

notable, debido a su manufacturación es más sencilla y económica, por lo que la terapia génica podría escalar a una mejor posición en el mercado. A su vez, son todavía más seguros que los vectores virales, eliminando los efectos secundarios como la citotoxicidad o la respuesta inmune frente a antígenos virales. Otra ventaja frente a los vectores virales es la capacidad de los vectores no virales, permitiendo introducir largas secuencias génicas, haciendo el proceso mucho más eficiente económica e industrialmente²⁰.

Sin embargo, los inconvenientes suelen ensombrecer las ventajas de estos vectores. El más reconocido es el de su alto porcentaje de degradación, suponiendo un blanco fácil para la degradación endosomal, por lo que a menudo su proceso industrial debe incluir sistemas personalizados adicio-

nales para proteger el material genético. Al mismo tiempo, su baja especificidad puede suponer un grave problema de toxicidad para el paciente, ya que, a diferencia de los vectores virales, los no virales encuentran mayor dificultad para alcanzar las células dianas, pudiendo tener resultados nocivos para el paciente. Por último, debido a que en la mayoría de los casos constituyen sistemas híbridos, es decir, una combinación de distintos componentes (por ejemplo, 4 tipos de lípidos distintos), el proceso creativo suele necesitar de la colaboración de muchos especialistas, así como de una inversión grande y una fase experimental complicada, por lo que, a menudo, muchos de los vectores no virales no llegan a la fase de comercialización²⁰.

El escenario actual de la terapia génica no ha cambiado mucho a lo largo de su

historia respecto a los vectores usados. Los vectores virales siguen encabezando la lista de vectores usados en ensayos clínicos. Hasta 2018, los adenovirus eran los vectores virales punteros, seguidos de los retrovirus, sin embargo, hoy en día, los virus adenoasociados (AAV) han ido ganando cada vez más reconocimiento hasta prácticamente convertirse en el vector viral más usado. Esto es debido en gran parte a que una vez el virus adenoasociado se introduce en el interior de las células, éste se mantiene en forma de episoma, lo que significa que proporciona el gen sin integrarse en el genoma de la célula diana. Esto supone un avance muy destacado, ya que una de las mayores inquietudes en el campo de la terapia génica es la interrupción de genes importantes, así como la activación de genes que pueden estar relacionados con el cáncer, por lo que este vector solventa en gran medida una de las complicaciones más relevantes de la terapia génica en humanos^{24,25,26}.

2. Discusión

2.1. Posibles aplicaciones clínicas y abordaje

Como se ha mencionado a lo largo del artículo, la terapia génica está aún en su etapa inicial, con muchos proyectos en ensayo clínico. Se aborda desde enfermedades congénitas hasta cánceres sólidos, por lo que, observando los ensayos clínicos de la última década, se podría establecer una clasificación de campos específicos: cánceres, enfermedades monogénicas y poligénicas, infecciones y otros estudios

(fallos cardíacos, osteoartritis, enfermedad vascular periférica, etc.)²⁷.

2.1.1. Cáncer

Aunque el objetivo inicial de la terapia génica era hacer frente a enfermedades monogénicas, hoy en día, con alrededor de un 65% de ensayos clínicos, el cáncer se ha proclamado como la enfermedad con el mayor número de protocolos de terapia génica.

Según el National Cancer Institute²⁸, cáncer es el nombre que se da a un conjunto de enfermedades relacionadas. En todos los tipos de cáncer, algunas de las células del cuerpo empiezan a dividirse sin detenerse y se diseminan a los tejidos de alrededor. El cáncer no es solo una enfermedad sino muchas enfermedades de

²⁴ Sayed, N., Allawadhi, P., Khurana, A., Singh, V., Navik, U., Pasumarthi, S. K., Khurana, I., Banothu, A. K., Weiskirchen, R., & Bharani, K. K. (2022). Gene therapy: comprehensive overview and therapeutic applications. *Life Sciences*, 294, 120375. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120375>

²⁵ Hudecek, M., Izsvák, Z., Johnen, S., Renner, M., Thumann, G., & Ivics, Z. (2017). Going non-viral: the Sleeping Beauty transposon system breaks on through to the clinical side. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 52(4), 355-380. <https://doi.org/10.1080/10409238.2017.1304354>

²⁶ Tolosa, A. (2020). Nuevas cuestiones a resolver para la terapia génica con virus adenoasociados. *Genotipia*. https://genotipia.com/genetica_medica_news/terapia-genica-virus-adenoasociados/

²⁷ Arabi, F., Mansouri, V., & Ahmadbeigi, N. (2022). Gene therapy clinical trials, where do we go? An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113324. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113324>

²⁸ What is cancer? (2021). National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>

carácter multifactorial, con más de 100 diferentes tipos de cáncer. Están involucradas tanto alteraciones genéticas innatas como adquiridas, en las que se producen mutaciones en una amplia variedad de genes. A menudo estas mutaciones presentan causas ambientales, como puede ser el estilo de vida. El cáncer es la principal causa de muerte a escala mundial. Se le atribuyen 8.2 millones de defunciones ocurridas en todo el mundo (OMS, 2012), por lo que es comprensible que la mayoría de la inversión en investigación a nivel mundial se destine a esta enfermedad.

Hay 2 grandes grupos de genes que afectan al ciclo celular: los protooncogenes (promueven la proliferación; aceleradores del ciclo celular) y los genes supresores de tumores (actúan en los puntos de control del ciclo celular; frenos del ciclo celular). Ambos cooperan para que el ciclo avance de forma correcta. Cuando los protooncogenes mutan se transforman en oncogenes. Mutaciones en genes supresores de tumores también tienen consecuencias importantes en el origen de la enfermedad. La alteración de estos genes contribuye a la aparición del cáncer, es por ello por lo que un amplio espectro de ensayos clínicos de terapia génica los fija como diana, tratando de revertir sus mutaciones. Un ejemplo es el del oncogén HER2, que afecta al 25% de pacientes con cáncer de mama, desarrollándose terapias anti-HER2 (los pacientes sobreexpresan la proteína aumentando su concentración, por lo que la terapia trata de bloquear la actividad del gen)²⁹.

Dentro de todos los tipos de cáncer, los más estudiados en el ámbito de la terapia génica son los hematológicos (especialmente leucemias, linfomas y mielomas múltiples), seguidos de los gastrointestinales y de los del sistema nervioso. Las estrategias utilizadas para atacar el cáncer mediante este tratamiento son las siguientes: la introducción de un gen que induzca la muerte de las células tumorales o que aumente su sensibilidad a la quimioterapia y radioterapia, el bloqueo de un oncogén o la inserción de un gen supresor de tumores que trate de compensar las mutaciones causantes de la enfermedad y, por último, la potenciación de la respuesta inmune y el reconocimiento del tumor mediante la expresión de genes que permitan combatir la capacidad de las células cancerígenas de evitar al sistema inmunitario^{30,31,32}.

En los últimos años, se ha desarrollado un revolucionario tratamiento genético experimental frente al cáncer que supone

²⁹ Moradian, C., & Rahbarizadeh, F. (2021). PE38-based gene therapy of HER2-positive breast cancer stem cells via VHH-redirected polyamidoamine dendrimers. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93972-5>.

³⁰ Arabi, F., Mansouri, V., & Ahmadbeigi, N. (2022). Gene therapy clinical trials, where do we go? An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113324. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113324>

³¹ Junghans, R. P. (2017). The challenges of solid Tumor for designer CAR-T therapies: A 25-year perspective. *Cancer Gene Therapy*, 24(3), 89-99. <https://doi.org/10.1038/cgt.2016.82>

³² Das, S. K., Menezes, M. E., Bhatia, S., Wang, X., Emdad, L., Sarkar, D., & Fisher, P. B. (2014). Gene therapies for cancer: Strategies, challenges and successes. *Journal of Cellular Physiology*, 230(2), 259-271. <https://doi.org/10.1002/jcp.24791>

uno de los acontecimientos más brillantes de la medicina en las últimas décadas. Se trata de la terapia de células T con receptores quiméricos de antígenos o CAR-T. De hecho, se especula que esta nueva terapia *ex vivo* pueda desplazar a la quimioterapia como el tratamiento de elección para hacer frente al cáncer. El procedimiento se basa en la alteración genética de los linfocitos T del paciente (glóbulos blancos) en el laboratorio para que puedan reconocer las células cancerígenas, activarse y propagar la respuesta al resto de células inmunológicas. Estos linfocitos T modificados comprenden el receptor de antígeno quimérico o CAR, que permite la detección y unión de antígenos específicos que se expresan en las células cancerígenas. El receptor está compuesto por un dominio extracelular que se une al antígeno y por otros dos dominios que actúan como coestimuladores, para potenciar la respuesta frente al antígeno. Así, la combinación de la activación de los linfocitos T y su habilidad para expandir la respuesta hace que la terapia suponga una de las expectativas terapéuticas más prometedoras en la lucha contra el cáncer^{30,31,32,33,34}.

La aprobación de la primera terapia CAR-T, tisagenlecleucel, por la Food and Drug Administration (FDA) se realizó en 2017³⁵. Desde entonces, se han aprobado un total de 6 terapias CAR-T, viendo resultados favorables sobre todo en pacientes con cánceres hematológicos. Los distintos tipos de cáncer tienen distintos tipos de antígenos, por lo que, actualmente, un amplio rango de investigaciones oncológicas está orientada a extender el nú-

mero de cánceres tratables por la terapia CAR-T. Como afirmó el doctor Antonio Pérez Martínez, jefe de Servicio de Hemato-Oncología Pediátrica del Hospital Universitario La Paz³⁶:

“CAR significa coche en inglés y hay muchos tipos de coche; los modernos corren más que los antiguos, pero, seguramente, menos que los del futuro, porque están en constante evolución. Pasa lo mismo con las terapias CAR-T. Sin embargo, los coches modernos fuera de la carretera asfaltada no van bien y se necesitan tractores (“TRUCKS”), que van a ser más fiables, seguros y eficaces. Esto es lo que ocurre en los tumores sólidos y el microambiente tumoral”.

³³ Sahillioglu, A. C., Toebes, M., Apriamashvili, G., Gomez, R., & Schumacher, T. N. (2021). CRASH-IT Switch Enables Reversible and Dose-Dependent Control of TCR and CAR T-cell Function. *Cancer Immunol Res.*, 9(9), 999-1007. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.cir-21-0095>

³⁴ Zeng, J., Tang, S. Y., & Wang, S. (2019). Derivation of mimetic T cells endowed with cancer recognition receptors from reprogrammed T cell. *PLOS ONE*, 14(5), e0216815. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216815>

³⁵ FDA approves tisagenlecleucel for B-cell ALL and tocilizumab for cytokine release syndrome (2017). U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-tisagenlecleucel-b-cell-all-and-tocilizumab-cytokine-release-syndrome>

³⁶ Mancebo, S. (2023). Las terapias CAR-T rompen las barreras del cáncer y podrán usarse en un futuro próximo para tratar enfermedades autoinmunes. Asociación Española de Pediatría. <https://www.aeped.es/noticias/las-terapias-car-t-rompen-las-barreras-cancer-y-podran-usarse-en-un-futuro-proximo-tratar>

Las mayores complicaciones de la terapia CAR-T son una respuesta inmune exacerbada que pueda provocar daños en el propio paciente (síndrome de liberación de citocinas; SLC) y toxicidad neurológica relacionada con células inmunes (síndrome de neurotoxicidad asociado a células inmunoefectoras; SNACI). Si el paciente aún no ha mostrado la aparición de efectos secundarios tras cuatro semanas desde el inicio del tratamiento, se puede afirmar, en la mayoría de los casos, que la persona suele estar fuera de peligro de complicaciones graves³⁷.

2.1.2. Enfermedades monogénicas y poligénicas

Según el Boston Children's Hospital, la terapia génica nace con el propósito de poner fin a las enfermedades con causa genética. Como se mencionó anteriormente, entre las enfermedades genéticas podemos distinguir entre las monogénicas y las poligénicas. A diferencia de las enfermedades monogénicas, las poligénicas difieren, en cierta medida, de las condiciones establecidas por Mendel, mostrando un fenotipo de enfermedad atribuido a la variación de miles de nucleótidos que, de manera individual, no muestran efectos notorios pero que combinados, constituyen el eje de la enfermedad poligénica en el individuo, aumentando el riesgo, conforme más variantes génicas perjudiciales presente en su genoma. Este tipo de enfermedades sí presentan un factor heredable importante, a diferencia del cáncer en el que sólo en un 10% de los casos, el factor heredable es determinante.

Para el tratamiento de estas enfermedades, como la fibrosis quística; las talasemias o la distrofia muscular de Descheune, es común el uso de vectores virales mediante tratamiento *in vivo*³⁸. Las monogénicas tienen menor complejidad debido a que la diana se compone solo de un gen. Algunos ejemplos de enfermedades monogénicas abordables mediante terapia génica son la inmunodeficiencia combinada grave (SCID; mutaciones en el gen IL2RG), distrofias retinianas congénitas (con mutaciones en el gen RPE65), betatalasemia dependiente de transfusiones (se inserta el gen de hemoglobina normal) y atrofia muscular espinal (afectación en el gen SMN1, en la mayoría de los casos)^{39,40,41}.

Uno de los avances más importantes en el tratamiento de enfermedades monogénicas ha ocurrido este último año 2023,

³⁷ Lamture, G., Baer, A. N., Fischer, J. W., Colon-Moran, W., & Bhattarai, N. (2021). TCR-independent activation in presence of a SRC-family kinase inhibitor improves CAR-T cell product attributes. *Journal of Immunotherapy*, 45(3), 139-149. <https://doi.org/10.1097/cji.0000000000000402>

³⁸ Arabi, F., Mansouri, V., & Ahmadbeigi, N. (2022). Gene therapy clinical trials, where do we go? An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113324. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113324>

³⁹ Martínez Martínez L. (2011). Diagnóstico Molecular y Genético de Inmunodeficiencias Primarias ligadas al X. Tesis doctoral.

⁴⁰ Kirschner, J., & Cathomen, T. (2020). Gene therapy for monogenic inherited disorders—opportunities and challenges. *Dtsch Arztebl Int*. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2020.0878>

⁴¹ Spinal muscular atrophy. MedlinePlus. (2008). <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000996.htm>.

mediante una nueva modalidad en terapia génica: un paciente con epidermolísis bullosa distrófica o, como comúnmente se conoce, la “enfermedad de la piel de mariposa” pudo recuperar su visión prácticamente de manera holística. Esta enfermedad afecta a los procesos cicatrizantes del organismo, perdiendo en muchas ocasiones la visión debido a que es opacada por el propio tejido de cicatrización. El tratamiento utilizado fue desarrollado por Krystal Biotech; unas gotas de ojos que contenían el virus del herpes simplex inactivado con copias del gen que codifica para el colágeno 7 (gen afectado en esta enfermedad monogénica). Se estima que este mismo procedimiento podría ser usado para otras alteraciones como la distrofia de Fuchs (poligénica), con una prevalencia mundial de aproximadamente el 4 % de la población mayor de 40 años, que corresponde a más de 300 millones de personas. Así, la terapia génica podría hacer frente a problemas tan notorios como la pérdida de visión^{42,43}.

La principal complicación a la hora de diagnosticar y tratar condiciones médicas poligénicas es la estratificación y variación genética dentro de una población; la prevalencia de algunas afecciones varía según la procedencia geográfica del individuo, por lo que también difiere la respuesta fisiológica a un fármaco o tratamiento. Una herramienta muy útil para conocer las variantes alélicas que pueden provocar alteraciones en una población e identificar las diferencias y similitudes entre poblaciones es el estudio de asociación del genoma completo (GWAS), usado para identificar

las variantes relacionadas con un riesgo de enfermedad⁴⁴. Las enfermedades poligénicas con mayor incidencia y, por las que la mayor parte de la investigación actual se enfocan en ellas, son asma, migraña crónica, lupus eritematoso, artritis reumatoide, esquizofrenia, trastorno bipolar y enfermedad de Crohn⁴⁵.

Mientras que la mayoría de los ensayos clínicos respecto a enfermedades de carácter genético han sido derivados a alteraciones metabólicas, oculares o coagulativas, la nueva generación de genetistas está abriendo un nuevo frente en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas poligénicas que, aunque presenta un mayor número de limitaciones respecto a otros tipos de enfermedades (debido a la complejidad del procedimiento), en los primeros ensayos se están dando resultados muy espe-

⁴² Houser, K. (2023). Gene therapy helps restore teen's vision for first time. leaps.org. <https://leaps.org/eye-drops/particle-1>

⁴³ Office of the Commissioner. (2023). FDA approves first topical gene therapy for treatment of wounds in patients with dystrophic epidermolysis Bullosa. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-topical-gene-therapy-treatment-wounds-patients-dystrophic-epidermolysis-bullosa>

⁴⁴ Estudio de asociación de genoma completo (GWAS). National Human Genome Research Institute. (2023). <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Estudio-de-asociacion-de-genoma-completo#:~:text=Definici%C3%B3n,o%20con%20un%20rasgo%20determinado>.

⁴⁵ Oliynyk, R. T. (2019). Future Preventive gene therapy of polygenic diseases from a population genetics perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5013. <https://doi.org/10.3390/ijms20205013>

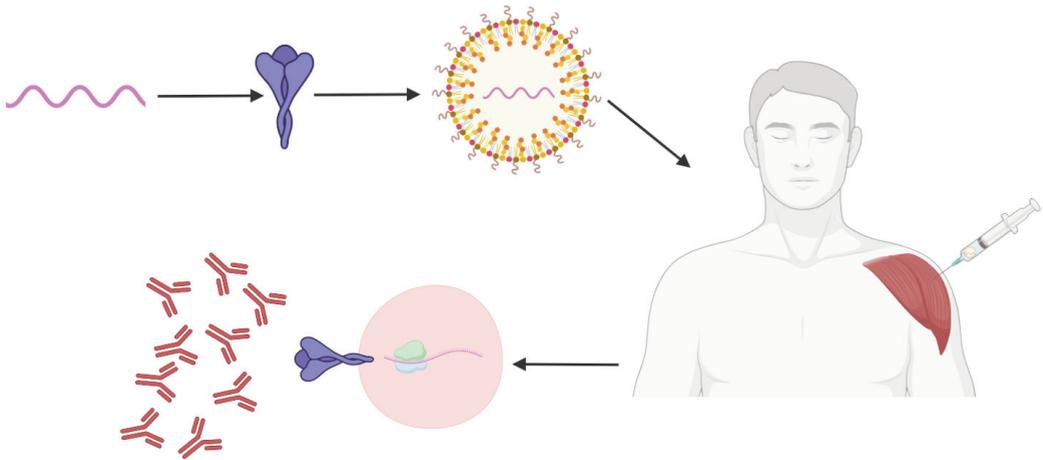


Figura 6. Modo de actuación de la vacuna contra el coronavirus.

ranzadores. Las enfermedades neurodegenerativas, a menudo, se relacionan con bloqueos en alguna de las vías de señalización que desencadenan la transmisión nerviosa o bien por acúmulo de sustancias tóxicas que desencadena el proceso neurodegenerativo. Una nueva investigación en la Universidad de Cambridge ha propuesto que mediante la introducción de los genes del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF; factor de crecimiento) y del receptor tirosina kinasa tipo B (TrkB; receptor de BDNF) se puede propulsar, de manera significativa, el crecimiento axonal, así como la correcta señalización extracelular necesaria para la transmisión del impulso nervioso a través del axón, obteniéndose resultados favorables en modelos de glaucoma o Alzheimer⁴⁶.

2.1.3. Enfermedades infecciosas

El rango de acción de la terapia génica solía discriminar a las enfermedades in-

fecciosas, existiendo una cantidad ínfima de ensayos relacionados con éstas. Sin embargo, desde diciembre de 2019, debido a la emergencia sanitaria que conllevó la pandemia del coronavirus, se han aprobado más de 29 ensayos contra la enfermedad COVID-19. Hay cierta controversia sobre si se debiese considerar las vacunas contra la COVID-19 como terapia génica debido a que no alteran el material genético del individuo tratado; solo se aporta el ARN mensajero con la información necesaria para que las células del paciente sintetizen las proteínas coronavíricas, induciendo una mayor y más efectiva respuesta inmune en caso de exposi-

⁴⁶ Khatib, T., Osborne, A., Yang, S., Ali, Z., Jia, W., Manyakin, I., Hall, K., Watt, R., Widdowson, P., & Martin, K. R. (2021). Receptor-ligand supplementation via a self-cleaving 2A peptide-based gene therapy promotes CNS axonal transport with functional recovery. *Science Advances*, 7(14). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd2590>

ción al virus (Fig. 6). La comunidad científica no ha llegado a un consenso acerca de si se considera terapia génica o no; sin embargo, la última palabra la tuvo la FDA, que incluyó las vacunas de BioNTech y Moderna Therapeutics en la lista de productos de terapia génica aprobados^{47,48}.

Otro reconocido avance en el campo de las enfermedades infecciosas fue uno de los últimos tratamientos frente al VIH. La terapia es parecida a la CAR-T frente al cáncer, ya que también se basa en la modificación genética de células inmunitarias, sin embargo, en este caso se modifican para resistir el ataque del virus contra estas células. Así, aunque quede una reserva latente del virus en el organismo, éste no causa daño significativo al sistema inmunitario. Otro abordaje de la ingeniería genética fue el de la modificación de las células diana del virus, para evitar su replicación, sin embargo, debido a que, en muchos pacientes estas células diana se ven disminuidas, se han estudiado nuevas estrategias, como la modificación genética de las células productoras de las células diana, que secretarían proteínas antivirales (AVP) que protegerían a las células diana que todavía no han sido expuestas al virus⁴⁹.

2.2. El lápiz genético: CRISPR-Cas9

En el año 1993, un microbiólogo alicantino, Francisco Mojica, descubrió unas secuencias repetidas en el genoma de un microorganismo encontrado en las costas de la Comunidad Valenciana. Investigaciones posteriores demostraron que otros or-

ganismos como las bacterias *E.coli* o *M.tuberculosis* también comprendían estas secuencias en su genoma, por lo que, si se habían mantenido a lo largo de la evolución en tantos organismos, debían tener una función importante. Tras años manipulando esas secuencias para tratar de averiguar que función cumplían, en el año 2003, el propio Mojica, dio con la clave, a saber, eran una especie de sistema inmunitario que defendía a organismos procariontes como las bacterias o las arqueas del ataque de los virus. Estos fueron los comienzos de CRISPR-Cas9, la técnica genética más importante del siglo. Años más tarde, en 2020, las investigadoras Charpentier y Doudna fueron obsequiadas con el Premio Nobel de Química por su contribución al desarrollo de la técnica CRISPR-Cas9, ya que fueron ellas, junto a un grupo de investigación lituano, quienes descubrieron los elementos necesarios del sistema para cortar el ADN y modificarlo, abriendo paso a un mercado multimillonario, en el que

⁴⁷ Arabi, F., Mansouri, V., & Ahmadbeigi, N. (2022). Gene therapy clinical trials, where do we go? An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113324. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113324>

⁴⁸ Díaz, F. J., & Toro-Montoya, A. I. (2022). Del ARN mensajero a los vectores virales y las proteínas recombinantes: la evolución de las vacunas contra COVID-19. *Medicina y Laboratorio*, 26(4), 319-322. <https://doi.org/10.36384/01232576.596>

⁴⁹ Arjmand, B., Larjani, B., Hosseini, M., Payab, M., Gilany, K., Goodarzi, P., Roudsari, P. P., Baharvand, M. A., & Mohammadi, N. S. H. (2019). The horizon of gene therapy in Modern Medicine: Advances and challenges. *Advances in Experimental Medicine and Biology* (pp. 33-64). https://doi.org/10.1007/5584_2019_463

miles de empresas luchan por patentar la técnica y decidir su autoría^{50,51}.

En el genoma microbiano CRISPR-Cas9 aparece como una serie de secuencias de ADN espaciador alternadas con secuencias palindrómicas idénticas repetidas, denominado en conjunto array CRISPR⁵². Las secuencias espaciadoras son hipervariables ya que dependen de los contactos con virus o plásmidos que haya tenido el microorganismo en cuestión. El array CRISPR se transcribe como un ARNm, controlado por una secuencia líder. Además, tiene asociados los genes Cas, que codifican para las proteínas Cas, con actividad endonucleasa, encargada de cortar el ADN vírico, defendiendo así al microorganismo del ataque vírico^{53,54,55}.

Como hemos mencionado, las bacterias y arqueas utilizan este mecanismo a su favor; el sistema se activa cuando el microorganismo es infectado por un virus que inyecta su ADN al interior. Un segmento de este ADN inyectado es introducido en las secuencias espaciadoras entre las secuencias CRISPR. Al transcribirse CRISPR se genera un ARN de interferencia con la secuencia vírica incorporada, que guiará a la proteína Cas hacia un ADN similar al del virus para cortar y empalmar donde el ARN le guíe, es decir, la primera infección sirve para que el microorganismo identifique el ADN del virus, pudiendo reconocer y degradar el ADN del virus, de manera eficaz, si se produce una reinfección; un mecanismo similar al de vacunación en humanos⁵⁴.

La edición génica está en su tercera generación; antes del sistema CRISPR-Cas9

en ingeniería genética se usaban las nucleasas con dedos de zinc (ZFN) y las nucleasas de actividad similar al activador de transcripción (TALEN). Sin embargo, estas requerían amplias librerías de proteínas con especificidad de secuencias variables para marcar el ADN a modificar, a diferencia de la tecnología CRISPR, que redirige a las proteínas Cas mediante un ARN guía, lo que proporciona facilidad y eficiencia al proceso⁵⁶.

⁵⁰ Ferrer, S. (2014). La técnica genética «que lo cambiará todo» desata una guerra de patentes. *elconfidencial.com*. https://www.elconfidencial.com/tecnologia/2014-12-10/tres-startups-se-pelean-por-la-tecnica-genetica-que-lo-cambiara-todo_582726/

⁵¹ Fundación Ramón Areces-Noticias. (2023). Francisco Mojica, descubridor del sistema CRISPR, recibe el II Premio ACES-Margarita Salas. Fundación Ramón Areces <https://www.fundacionareces.es/fundacionareces/es/comunicacion/noticias/francisco-mojica-descubridor-del-sistema-crispr-recibe-el-ii-premio-aces-margarita-salas.html>

⁵² Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-CAS9. *Science*, 346(6213). <https://doi.org/10.1126/science.1258096>

⁵³ Chávez-Jacobo, V. M. (2018). El sistema de edición genética CRISPR/CAS y su uso como antimicrobiano específico. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(2), 116-123. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.2.5>

⁵⁴ López-Goñi, I. (2015). Las bacterias también se “vacunan”: el sistema CRISPR/CAS – MicroBIOBlog. <https://microbioblog.es/las-bacterias-tambien-se-vacunan-el>

⁵⁵ Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-CAS9. *Science*, 346(6213). <https://doi.org/10.1126/science.1258096>

⁵⁶ Hsu, P., Lander, E. S., & Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-CAS9 for genome engineering. *Cell*, 157(6), 1262-1278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010>

Los dos componentes imprescindibles para la aplicación clínica de esta técnica en genes mutados son el ARN guía, para identificar la zona de interés, y la proteína Cas9, para realizar el corte en esa zona. El ARN guía sitúa a la proteína Cas9 en la zona mutada, siguiendo la regla de complementación de bases ARN-ADN. A continuación, la nucleasa efectúa el corte en el ADN, desechando el fragmento con la mutación. Para reparar ese fragmento de ADN que se ha escindido se puede producir^{56,57}:

Recombinación no homóloga, es decir, se adhieren fragmentos de ADN no relacionados por lo que, al unirse segmentos de distinta naturaleza, el gen tiende a romperse e inactivarse.

Recombinación homóloga mediante el uso de moldes de ADN exógenos, resultando en un gen “sano”, activo y sin mutación. En este caso, se aporta la secuencia sin mutación para llevar a cabo la correcta unión de los extremos resultantes del corte con la nucleasa.

2.3. Problemas éticos y expectativas de futuro

La comercialización de cada vez más terapias génicas genera expectativas esperanzadoras; supone una revolución para la medicina moderna. Sin embargo, la controversia y el desconocimiento nubla, en ocasiones, los resultados experimentales obtenidos tras años de investigación y estudios.

A menudo, se genera el debate sobre la modificación de la línea germinal, estrictamente prohibida hoy en día. Es cierto que

podría eliminar, en cierta medida, la posibilidad de transmisión de enfermedades heredables en todo un árbol genealógico. Sin embargo, los efectos secundarios no están descritos; podría afectar de manera negativo al feto, ya que se está modificando la base de la vida, los bloques de construcción básicos para el organismo: su material genético. Además, se está sometiendo a toda una generación de descendientes a una modificación controlada de su genoma sin su consentimiento, al ser fetos, no pueden elegir si quieren aplicar sobre su organismo la terapia génica o no. Otro punto en contra es que este tipo de terapias podría desenlazar en problemas éticos de mayor alcance para la humanidad porque, ¿cómo distinguimos los caracteres “normales” de los caracteres causantes de discapacidad?, ¿puede este avance suponer un aumento de la discriminación hacia aquellos individuos con trastornos genéticos?, ¿quién nos garantiza que esta terapia no será utilizada para el “mal”?

Otra barrera importante para el avance de la terapia génica son los resultados incongruentes. Es una técnica en fase experimental, por lo que, aunque ya esté dando frutos en algunas enfermedades sustanciales, todavía no se puede demostrar, con evidencia suficiente, su efectividad, lo que, acompañado de algunas noticias

⁵⁷ Ran, F. A., Hsu, P., Wright, J., Agarwala, V., Scott, D., & Zhang, F. (2013). Genome engineering using the CRISPR-CAS9 system. *Nature Protocols*, 8(11), 2281-2308. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.143>

sensacionalistas respecto a este tratamiento, puede ser fuente de desconfianza entre la población. Los factores necesarios para que sea efectiva no son distintos que para otras modalidades clínicas, pudiendo existir fallos técnicos (expresión genética, capacidad de alcanzar la célula diana, correcto funcionamiento del vector, etc.), clínicos (seguridad de la terapia, existencia de efectos secundarios, etc.) y socioeconómicos.

Aún con estos inconvenientes, este tipo de terapia tiene un futuro (y presente) prometedor. Aunque países como EE.UU., Japón o Reino Unido se mantienen a la vanguardia en los ensayos clínicos de terapia génica, España es considerado un representante de renombre de esta línea de investigación, promoviendo proyectos tanto de investigación básica como de ensayos clínicos. Fue en 2018 cuando se aprobó en España la financiación de la primera terapia génica contra el cáncer; hoy en día se están desarrollando 5 ensayos clínicos en cáncer, estando 4 de ellos en Fase 1. Aproximadamente 20 ensayos clínicos de terapia génica están siendo liderados por grupos o empresas españolas, tratando de abordar enfermedades hereditarias y tratamientos regenerativos^{58,59}.

La investigación de esta rama supone un desafío para la biomedicina moderna que se encuentra inmersa en un contexto complejo, con aspectos ajenos a la investigación, como la legislación, los sistemas sociales, el presupuesto, la esfera política, etc. En un futuro no muy lejano se puede esperar que la terapia génica no solo permita a los pacientes vivir sin la necesidad

de tratamientos continuos, sino también podría permitir alejar al paciente de la carga diaria de su enfermedad.

3. Conclusión

La terapia génica supone una robusta competencia a los métodos convencionales clínicos para tratar enfermedades con base genética. Es una alternativa prometedora que burla las limitaciones de otros tratamientos farmacológicos. No obstante, presenta aún unos desafíos a batir para ganarse la confianza de la sociedad y establecerse como estrategia de elección a la hora de tratar trastornos genéticos. El aumento de sistemas fiables y seguros, con el avance del estudio de nuevos vectores, elude de manera precisa los inconvenientes encontrados en esta terapia, siendo cada vez más útil en el tratamiento de enfermedades neoplásicas y neurodegenerativas. De hecho, cada día más pacientes están venciendo o, al menos, superando estas enfermedades gracias al uso de estas nuevas herramientas con fundamento genético.

Las nuevas técnicas de edición de genes, especialmente la técnica CRISPR/Cas9, han revolucionado el área de la biología molecular. Aprovechando un sistema de defensa microbiano se ha abierto un fren-

⁵⁸ Ensayos clínicos activos (s.f.). Sociedad Española de Terapia Génica. <https://www.setgyc.es/ensayos-cl%C3%ADnicos-en-esp%C3%B1a>

⁵⁹ Terapia génica en España (2019). Sociedad Española de Medicina de Laboratorio. <https://www.labtestsonline.es/news/news-terapia-genica-en-espana>

te diverso de aplicaciones médicas y biotecnológicas, resaltando la importancia de la investigación básica, ya que es un mecanismo basado en los principios de replicación y reparación del ADN. Las posibilidades de esta técnica parecen ser ilimitadas, con un amplio campo de acción en la edición de genomas eucariotas y procariotas, pudiendo hacer frente a amenazas tan sólidas como la resistencia bacteriana a antibióticos.

Aunque de momento no son muchos los fármacos comercializados, existe una gran cantidad de ensayos clínicos que podrían ver la luz del mercado en los próxi-

mos años. Existe una gran competencia por patentar estas nuevas estrategias que, sumado a los problemas bioéticos que conlleva la aplicación de la terapia génica, suponen una barrera notoria para su adaptación clínica. Sin embargo, se trata de una disciplina en continuo desarrollo, con resultados prometedores que brindan esperanzas a muchas familias. La terapia génica puede salvar vidas. De hecho, ya son muchos los individuos que están gozando de las ventajas de lo que supone la revolución biomédica más importante del siglo. Es, sin duda alguna, el presente y el futuro de la medicina tal y como la conocemos.

Referencias Bibliográficas

- Arabi, F., Mansouri, V., & Ahmadbeigi, N. (2022). Gene therapy clinical trials, where do we go? An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113324. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113324>
- Arjmand, B., Larijani, B., Hosseini, M., Payab, M., Gilany, K., Goodarzi, P., Roudsari, P. P., Baharvand, M. A., & Mohammadi, N. S. H. (2019). The horizon of gene therapy in Modern Medicine: Advances and challenges. *Advances in Experimental Medicine and Biology* (pp. 33-64). https://doi.org/10.1007/5584_2019_463
- Chávez-Jacobo, V. M. (2018). El sistema de edición genética CRISPR/CAS y su uso como antimicrobiano específico. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(2), 116-123. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.2.5>
- Das, S. K., Menezes, M. E., Bhatia, S., Wang, X., Emdad, L., Sarkar, D., & Fisher, P. B. (2014). Gene therapies for cancer: Strategies, challenges and successes. *Journal of Cellular Physiology*, 230(2), 259-271. <https://doi.org/10.1002/jcp.24791>
- Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-CAS9. *Science*, 346(6213). <https://doi.org/10.1126/science.1258096>
- Dunbar C., High K., Joung J., Kohn D., Ozawa K., Sadelain M. (2018). Gene therapy comes of age. *Science*, 359(6372). <https://doi.org/10.1126/science.aan4672>.
- Díaz, F. J., & Toro-Montoya, A. I. (2022). Del ARN mensajero a los vectores virales y las proteínas recombinantes: la evolución de las vacunas contra COVID-19. *Medicina y Laboratorio*, 26(4), 319-322. <https://doi.org/10.36384/01232576.596>
- E. Cevher, A.D. Sezer, E. Çaglar. (2012). Gene delivery systems: recent progress in viral and non-viral therapy, *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems*, 437-470.
- Ensayos clínicos activos (s.f.). Sociedad Española de Terapia Génica. <https://www.setgyc.es/ensayos-cl%C3%ADnicos-en-esp%C3%B1a>
- Estudio de asociación de genoma completo (GWAS). National Human Genome Research Institute. (2023). <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Estudio-de-asociacion-de-genoma-completo#:~:text=Definici%C3%B3n,o%20con%20un%20rasgo%20determinado>.
- Ferrer, S. (2014). La técnica genética «que lo cambiará todo» desata una guerra de patentes. *elconfidencial.com*. https://www.elconfidencial.com/tecnologia/2014-12-10/tres-startups-se-pelean-por-la-tecnica-genetica-que-lo-cambiara-todo_582726/
- Fundación Ramón Areces-Noticias. (2023). Francisco Mojica, descubridor del sistema CRISPR, recibe el II Premio ACES-Margarita Salas. Fundación Ramón Areces <https://www.fundacionareces.es/fundacionareces/es/comunica>

- cion/noticias/francisco-mojica-descubridor-del-sistema-crispr-recibe-el-ii-premio-aces-margarita-salas.html
- Gene Therapy Development for Disease (s.f.). Creative Biolabs. <https://www.creative-biolabs.com/gene-therapy/gene-therapy-development-for-disease.htm>
- Gene Therapy Market. Precedence Research. (s.f.). <https://www.precedenceresearch.com/gene-therapy-market>
- Ginn, S. L., Amaya, A. K., Alexander, I. E., Edelstein, M., Abedi, M. R. Gene therapy clinical trials worldwide to 2017: An update. *J Gene Med.* 2018; 20:e3015. <https://doi.org/10.1002/jgm.3015>
- Greely, H. T. (2001). Ethical Issues in the 'New' Genetics. Elsevier eBooks (pp. 4762-4770). <https://doi.org/10.1016/b0-08-043076-7/03364-7>.
- Houser, K. (2023). Gene therapy helps restore teen's vision for first time. leaps.org. <https://leaps.org/eye-drops/particle-1>
- Hsu, P., Lander, E. S., & Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-CAS9 for genome engineering. *Cell*, 157(6), 1262-1278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010>
- Hudecek, M., Izsvák, Z., Johnen, S., Renner, M., Thumann, G., & Ivics, Z. (2017). Going non-viral: the Sleeping Beauty transposon system breaks on through to the clinical side. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 52(4), 355-380. <https://doi.org/10.1080/10409238.2017.1304354>
- Ibraheem, D., Elaissari, A., & Fessi, H. (2014). Gene therapy and DNA delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 459(1-2), 70-83. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.11.041>
- Jahangiri, S., Rahimnejad, M., Boroujeni, N. N., Ahmadi, Z., Fath, P. M., Ahmadi, S., Safarkhani, M., & Rabiee, N. (2022). Viral and non viral gene therapy using 3D (bio)printing. *The Journal of Gene Medicine*, 24(12). <https://doi.org/10.1002/jgm.3458>
- Junghans, R. P. (2017). The challenges of solid Tumor for designer CAR-T therapies: A 25-year perspective. *Cancer Gene Therapy*, 24(3), 89-99. <https://doi.org/10.1038/cgt.2016.82>
- Khatib, T., Osborne, A., Yang, S., Ali, Z., Jia, W., Manyakin, I., Hall, K., Watt, R., Widdowson, P., & Martin, K. R. (2021). Receptor-ligand supplementation via a self-cleaving 2A peptide-based gene therapy promotes CNS axonal transport with functional recovery. *Science Advances*, 7(14). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd2590>
- Kirschner, J., & Cathomen, T. (2020). Gene therapy for monogenic inherited disorders—opportunities and challenges. *Dtsch Arztebl Int.* <https://doi.org/10.3238/arztebl.2020.0878>
- Lacadena, J. R. (1999). Terapia génica. Centro Nacional de Información y Comunicación Educativa. http://www.cnice.es/tematicas/genetica/1999_04_01.html, p. 1.

- Lamtore, G., Baer, A. N., Fischer, J. W., Colon-Moran, W., & Bhattarai, N. (2021). TCR-independent activation in presence of a SRC-family kinase inhibitor improves CAR-T cell product attributes. *Journal of Immunotherapy*, 45(3), 139-149. <https://doi.org/10.1097/cji.0000000000000402>
- Linden, R. (2013). Gene therapy: what it is, what it is not and what it will be. *Estudos Avançados* 24.
- López-Goñi, I. (2015). Las bacterias también se “vacunan”: el sistema CRISPR/CAS – MicroBIOBlog. <https://microbioblog.es/las-bacterias-tambien-se-vacunan-el>
- Mancebo, S. (2023). Las terapias CAR-T rompen las barreras del cáncer y podrán usarse en un futuro próximo para tratar enfermedades autoinmunes. Asociación Española de Pediatría. <https://www.aeped.es/noticias/las-terapias-car-t-rompen-las-barreras-cancer-y-podran-usarse-en-un-futuro-proximo-tratar>
- Martínez Martínez L. (2011). Diagnóstico Molecular y Genético de Inmunodeficiencias Primarias ligadas al X. Tesis doctoral.
- Megía, R. M. G. (2022). Historia de la Terapia génica. Genotipia. <https://genotipia.com/historia-de-la-terapia-genica/>
- Moradian, C., & Rahbarizadeh, F. (2021). PE38-based gene therapy of HER2-positive breast cancer stem cells via VHH-redirected polyamidoamine dendrimers. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93972-5>.
- Office of the Commissioner. (2023). FDA approves first topical gene therapy for treatment of wounds in patients with dystrophic epidermolysis Bullosa. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-topical-gene-therapy-treatment-wounds-patients-dystrophic-epidermolysis-bullosa>
- Oliylyk, R. T. (2019). Future Preventive gene therapy of polygenic diseases from a population genetics perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5013. <https://doi.org/10.3390/ijms20205013>
- Osborne, A. (2022). Gene Therapy and the Big Debate: Viral Vectors Vs Non-Viral Vectors. Phacilitate. <https://www.phacilitate.com/blog-gene-therapy-and-the-big-debate-viral-vectors-vs-non-viral-vectors/>
- Ramamoorth, M., & Narvekar, A. (2015). Non viral vectors in gene therapy- an overview. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2015/10443.5394>
- Ran, F. A., Hsu, P., Wright, J., Agarwala, V., Scott, D., & Zhang, F. (2013). Genome engineering using the CRISPR-CAS9 system. *Nature Protocols*, 8(11), 2281-2308. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.143>
- Ronchera, C. & González, J.M. (2002). Terapia Génica. *Farmacia Hospitalaria*, 2, 925. <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo2/CAP06.pdf>

- Ruiz Castellanos, M., & Sangro, B. (2005). Terapia génica: ¿Qué es y para qué sirve?, *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28(1), 17-27. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137_66272005000100002&lng=es&tlng=es.
- Sahillioglu, A. C., Toebes, M., Apriamashvili, G., Gomez, R., & Schumacher, T. N. (2021). CRASH-IT Switch Enables Reversible and Dose-Dependent Control of TCR and CAR T-cell Function. *Cancer Immunol Res.*, 9(9), 999-1007. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.cir-21-0095>
- Sayed, N., Allawadhi, P., Khurana, A., Singh, V., Navik, U., Pasumarthi, S. K., Khurana, I., Banothu, A. K., Weiskirchen, R., & Bharani, K. K. (2022). Gene therapy: comprehensive overview and therapeutic applications. *Life Sciences*, 294, 120375. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120375>
- Sierra-Delgado, J. A., Bautista-Niño, P. K., Vargas-Castellanos, C. I., Díaz, N. B., & Rincon, M. Y. (2019). Immune response and gene therapy with adenoassociated viral vectors. *PubMed*, 79(6), 493-501. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31829952>
- Soutullo, D. (s.f.). Terapia génica ayer y hoy. Web de la Universidad de Granada. https://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/tgdaniel.htm#_Toc22706635
- Spinal muscular atrophy. *MedlinePlus*. (2008). <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000996.htm>.
- Strachan, T. & Read, A. P. (1999). *Genética molecular humana*, op. cit., p. 617.
- Terapia génica en España (2019). Sociedad Española de Medicina de Laboratorio. <https://www.labtestsonline.es/news/news-terapia-genica-en-espana>
- Tolosa, A. (2020). Nuevas cuestiones a resolver para la terapia génica con virus adenoasociados. *Genotipia*. https://genotipia.com/genetica_medica_news/terapia-genica-virus-adenoasociados/
- Vera, O. L. (2006). Terapia génica. *Medicina Interna de México*, 22. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2006/mim065j.pdf>
- Wang, Y., Bruggeman, K. F., Franks, S., Gautam, V., Hodgetts, S. I., Harvey, A. R., Williams, R. A., & Nisbet, D. J. (2020). Is Viral Vector Gene Delivery More Effective Using Biomaterials? *Advanced Healthcare Materials*, 10(1), 2001238. <https://doi.org/10.1002/adhm.202001238>
- Zeng, J., Tang, S. Y., & Wang, S. (2019). Derivation of mimetic $\gamma\delta$ T cells endowed with cancer recognition receptors from reprogrammed $\gamma\delta$ T cell. *PLOS ONE*, 14(5), e0216815. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216815>

