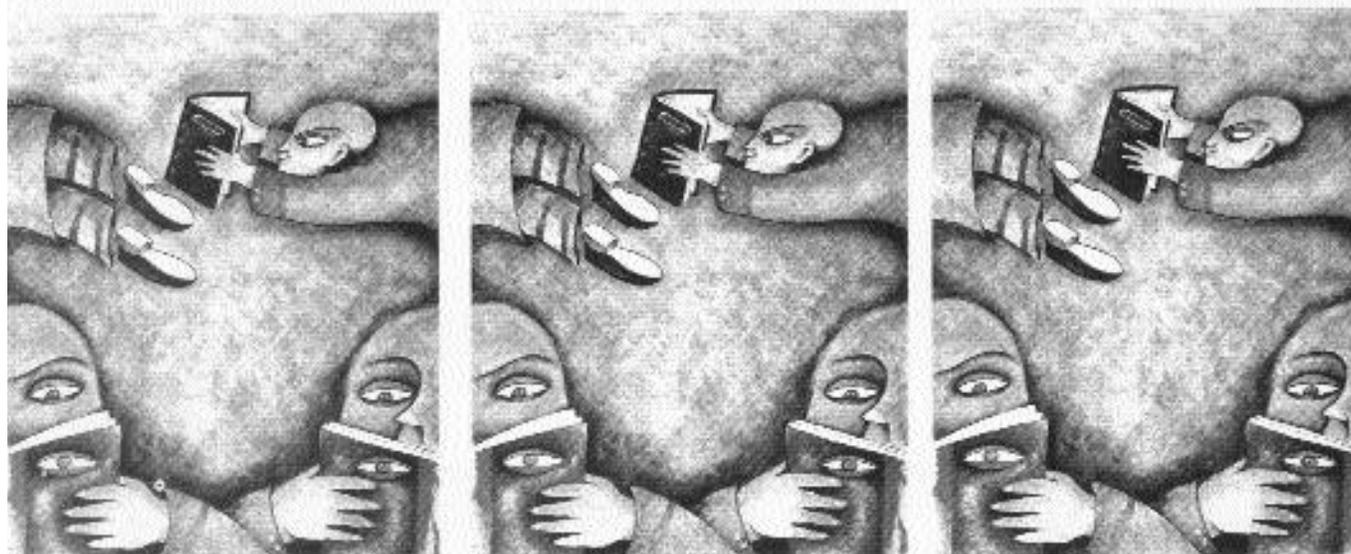


CENTRO DE INFORMACIÓN LIBROS UNAM



El CENTRO DE INFORMACIÓN LIBROS UNAM de la Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial nació en 1992 y está ubicado en Avenida del Imán núm. 5, Ciudad Universitaria. Su objeto es resguardar, clasificar y catalogar las publicaciones que a lo largo de su historia ha producido la comunidad universitaria bajo el sello UNAM.

El *CILU* tiene una doble vertiente de acervo histórico y banco de datos con funciones de información, protección de derechos de autor, herramienta de apoyo a los trabajos de edición, consulta bibliográfica y difusión de la cultura escrita.

¡Consúltalo!

e-mail: fomed@dragon.dgsca.unam.mx



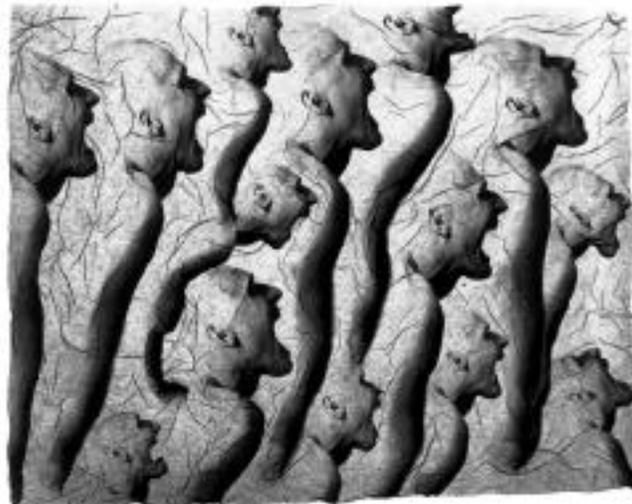
Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM

Av. del Imán núm. 5, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, México D.F., Tel y Fax 622 6582
<http://bibliounam.unam.mx/libros> VENTAS: e-mail: pfedico@servidor.unam.mx

Nuestra percepción actual acerca de la genética está sufriendo cambios profundos. Desde los primeros trabajos de Gregorio Mendel en 1865, hasta el desarrollo de la enzimología y de la bioquímica de las proteínas en las décadas de los cincuentas y los sesentas, los estudios de genética se basaron en el análisis de la transmisión de caracteres fenotípicos de una generación a la otra, es decir, en el estudio de los caracteres observables. A partir de 1973, con el inicio de la ingeniería genética, se empezó a considerar que el procedimiento normal para identificar un gen consistía en caracterizar primero la proteína para la cual codifica. A mediados de los años ochentas, armados con la experiencia de la ingeniería genética y de los estudios de ADN, se emprendió un retorno a las raíces: se estableció que el gen responsable de una enfermedad se puede identificar porque cosegrega (se transmite) con un fenotipo patológico, lo que se conoce como clonación posicional. La proteína se deduce a partir de la secuencia del gen identificado, e incluso se puede sintetizar por ingeniería genética. Este procedimiento también permite reconocer genes cuyas mutaciones no son directamente responsables de una enfermedad, pero que sin embargo aumentan la probabilidad de que ésta se manifieste, como en el caso de los genes de susceptibilidad a la arteriosclerosis, hipertensión o Alzheimer.

Recientemente la sed por descifrar nuestro propio genoma nos ha llevado a una nueva era, la de la genómica, cuyo principal objetivo es la secuenciación completa del genoma humano. De hecho, acaba de anunciarse la primera secuencia entera de un cromosoma humano, y podemos asegurar, sin demasiado riesgo, que todos los cromosomas habrán sido secuenciados en un futuro muy próximo.

Sin embargo, aún nos falta un enorme trecho antes de que a partir de la secuencia de los genes podamos inferir los fenómenos fisiológicos y patológicos. Entre los ochenta mil a ciento cuarenta mil genes de los que se compone nuestro alfabeto, sólo algunos están implicados en una enfermedad monogénica específica. Algunos de ellos son tan importantes que la más ligera mutación es letal, pero en otros casos existen candados de seguridad que permiten a ciertos genes paliar la ausencia o la alteración de otros, por medio de una cierta redundancia funcional. Además, el resultado fenotípico de un gen depende, generalmente, de su colaboración con otros genes y del contexto del medio ambiente, de la misma forma que el significado de una palabra depende de su posición dentro de una frase y debe de ser interpretado en función de la trama de la historia.



Genes ¿para qué?



HELÈNE GILGENKRANTZ,
JACQUES-EMMANUEL GUIDOTTI
Y AXEL KAHN



Ratones para los hombres

Uno de los prerequisites indispensables para la realización de ensayos terapéuticos clínicos es contar con modelos animales. A partir del nacimiento de la transgénesis, que permite la introducción de un fragmento de ADN en el genoma desde los primeros estados de la embriogénesis, ha sido posible desarrollar diversos modelos de afecciones humanas. Por medio de esta técnica no sólo se pueden modelar enfermedades monogénicas, sino que también se han desarrollado modelos de cáncer en tejidos específicos y es posible estudiar la cooperación entre distintos oncogenes, la cinética de la aparición de un proceso canceroso y, de esta manera, establecer sitios potenciales de intervención terapéutica.

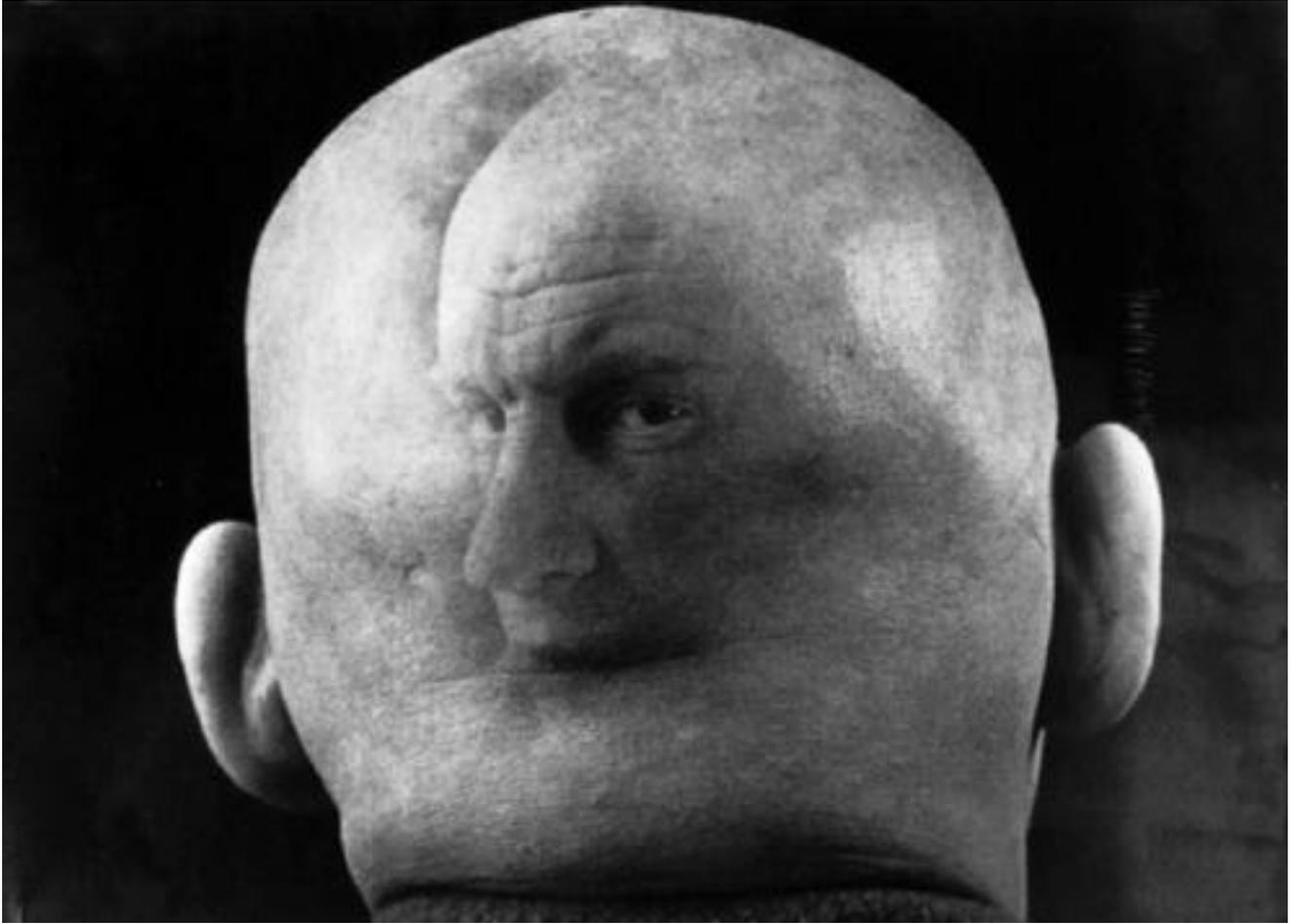
Hacia finales de la década de los ochentas se desarrolló una herramienta de creación de modelos animales muy poderosa; se trata de la posibilidad de reemplazar, durante las primeras etapas del desarrollo embrionario de los ratones, un gen normal por uno mutado, lo que se conoce como recombinación homóloga. Hasta entonces los investigadores habían dependido del carácter aleatorio de la mutagénesis, pero con esta nueva técnica, que se basa en el conocimiento del gen que se quiere interrumpir o mutar, se introduce la secuencia mutada en células embrionarias totipotenciales de ratón y, por medio de un método de selección positiva o negativa, se escogen aquellas células donde la secuencia mutada haya reemplazado a la secuencia normal del ratón. Gracias a esta técnica ha sido posible desarrollar modelos de mucoviscidosis que reproducen algunos de los signos de la afección en humanos, y fue posible probar la viabilidad, la eficacia y la inocuidad de las primeras tentativas de terapia génica. Desde entonces, la técnica de recombinación

homóloga se ha refinado considerablemente, y ahora es posible controlar la disfunción de un gen en el tiempo y en el espacio, como si estuviéramos accionando un interruptor. Volviendo al ejemplo de la mucoviscidosis, o del gen responsable, el *CFTR*, ha sido posible estudiar las consecuencias de la ausencia de su expresión en tipos de células específicos. Como esta técnica se basa en la homología de la secuencia del fragmento introducido con la del gen mutado, uno de los requisitos para poder emplearla es conocer, al menos, una parte de la secuencia del ADN del gen que se quiere modificar.

A pesar de estos avances, los modelos animales no siempre constituyen una buena copia fenotípica de las afecciones humanas. Por ejemplo, los ratones *MDX*, que al igual que los niños con miopatía de Duchenne están desprovistos de distrofina muscular, presentan un diagnóstico vital normal aun cuando sus músculos presentan ciertas lesiones causadas por el proceso necrótico característico de esta enfermedad. En algunos casos es posible contar con otros modelos animales, como ciertas afecciones articulares o de hipertensión, en las cuales las ratas desarrollan una semiología cercana a la enfermedad humana. Sin embargo, la transgénesis es aún una técnica difícil de realizar en especies que difieren del ratón, como ratas, conejos y vacas. Una de las aplicaciones de la transgénesis podría ser el uso de los órganos de animales transgénicos para realizar xenotransplantes. Aunque esta idea ya no sea ciencia ficción pura, la técnica aún presenta grandes dificultades de orden inmunológico y de seguridad que será necesario vencer antes de poder ponerla en práctica.

Comprender mejor para curar mejor

El hecho de haber identificado al gen responsable de una afección no implica que se comprenda su función o su participación en la fisiopatología, sin embargo, es necesario establecer los lazos que unen a la estructura del gen y a la proteína con los efectos deletéreos que produce su ausencia, para poder diseñar estrategias terapéuticas dirigidas y eficaces. Un ejemplo espectacular y reciente que ilustra este proceso es el de los trabajos emprendidos por dos equipos franceses en torno a una enfermedad muscular, la ataxia de Friedreich, un padecimiento que sufre una persona de cada cincuenta mil en Europa. El grupo de Jean Louis Mandel y Michel Koenig, en Estrasburgo, identificó el gen responsable de esta enfermedad y bautizó a la proteína para la cual codifica, pero cuya función se desconoce, frataxina. Un año más tarde, el equipo de Arnold Munich y Agnes Rötig, en París, observó una deficiencia en las proteínas fierro-azufre mitocondriales en las biopsias de endomiocardio de los pacientes con ataxia de Friedreich. Con estas dos claves era po-



sible describir la secuencia fisiopatológica de la enfermedad aunque no se hubiese descubierto la función precisa de la fra-taxina: acumulación de hierro mitocondrial, pérdida de las proteínas hierro-azufre y sobreproducción de aniones superóxidos tóxicos para las células. Siguiendo esta lógica, se probaron *in vitro* numerosas sustancias farmacológicas que pudieran intervenir en este ciclo. La vitamina C, que aumenta la producción de hierro reducido, aumentó la toxicidad; el desferral desplazó el hierro responsable de la destrucción de las proteínas hierro-azufre solubles de las membranas, y un agente antioxidante, el idebenone, que no reduce el hierro, protegió a las enzimas, tanto a las solubles como a las membranales. El tratamiento con idebenone permitió mejorar espectacularmente la hipertrofia cardíaca de los tres primeros pacientes tratados, y actualmente, solamente tres años después del descubrimiento del gen, ya se está llevando a cabo un ensayo clínico con más de cincuenta enfermos.

Desgraciadamente esto no sucede así para todas las enfermedades. Aunque el gen de la distrofina muscular de Duchenne fue identificado desde hace más de diez años, no se ha podido

diseñar una terapia eficaz para los pacientes con este padecimiento. Sin embargo, numerosos trabajos han permitido la consolidación del conocimiento acerca de las proteínas de esta familia. Un equipo inglés encontró una proteína análoga, la utrofina, que se expresa durante la vida fetal debajo de la membrana muscular al igual que la distrofina, pero que desaparece casi totalmente y sólo se expresa en las uniones neuromusculares después del nacimiento. Experimentos con modelos animales mostraron que la utrofina es capaz de reemplazar a la distrofina en el músculo adulto, reforzando así la idea de la existencia de una homología funcional entre ambas proteínas. Uno de los ejes de investigación terapéutica consiste en tratar de estimular la reexpresión de la utrofina fetal con el fin de prevenir la necrosis muscular.

Las estrategias terapéuticas derivadas del conocimiento del genoma no se restringen a las enfermedades monogénicas o cancerosas. También se pueden aplicar para tratar enfermedades inducidas por agentes infecciosos. ¿O no fue acaso el conocimiento del genoma del virus del sida lo que permitió imaginar el eficaz tratamiento con antiproteasas?

Una mina de medicamentos

Mucho antes de la revolución del genoma los genes ya servían como una fuente indiscutible de proteínas medicamentosas. Gracias a la ingeniería genética y al conocimiento de la secuencia proteica y de su maduración postraducciona —que en ocasiones es esencial para su funcionamiento— ha sido posible desarrollar terapias de sustitución, es decir, la administración de la proteína “sana” para compensar a la que falta o que está mutada. Para obtener una proteína determinada en grandes cantidades se introduce el gen en un organismo, desde una bacteria hasta un mamífero, para que su maquinaria de transcripción y de traducción la sintetice. Esta técnica de síntesis de proteínas es preferible a la de purificación a partir de tejidos animales o humanos que ocasionaron graves accidentes. Entre la larga lista de proteínas que se producen con este método, también llamadas proteínas recombinantes, se encuentran la insulina, la eritropoietina, el factor VIII, el factor IX, las enzimas lisosomales, la hormona de crecimiento, las citoquinas y el interferón.

En la era de la automatización y de la informatización intensivas, la secuenciación completa de nuestro genoma puede significar la posibilidad de identificar todos los sitios de intervención terapéutica o las moléculas proteicas codificadas por esos genes. En efecto, los genes codifican para las enzimas, los receptores o los canales, que son las proteínas sobre las cuales actúan y actuarán los medicamentos de hoy y del mañana. Un importante esfuerzo industrial ha sido puesto en marcha para identificar moléculas naturales y sintéticas capaces de interactuar y modular la actividad de estos sitios “blanco”. Se han emprendido varios programas para identificar nuevos moduladores químicos de la expresión génica, en particular, se busca aumentar la actividad específica de los promotores de genes que tengan un interés terapéutico. Este estudio se puede realizar en cultivos de células que contengan en su genoma la región promotora del gen que se quiere analizar acoplada a un gen marcador. De esta manera se pueden probar varios miles de moléculas en cadenas automatizadas, lo que se conoce como *highthroughput screening* tamiz de alto rendimiento. La modulación de la expresión del gen marcador se analiza por medio de sistemas ópticos integrados a procesadores informáticos. Una vez que se identifica una molécula activa se estudia su biodisponibilidad, toxicidad y metabolismo. En nuestro ejemplo de la distrofia muscular de Duchenne, una vía terapéutica posible consistiría en buscar moléculas capaces de estimular la reexpresión de la utropina bajo la membrana muscular como en el estado fetal, así como se logró la reexpresión de la hemoglobina fetal por medio de butirato, hidroxurea y eritropoietina en la drepanocitosis.

Así como la genómica se refiere a la genética en la época de los programas de los genomas, la farmacogenómica es una nueva forma de ver la farmacogenética a una gran escala. La idea subyacente es que el desarrollo de los métodos de estudio genéticos de los individuos permitirá desembocar en una terapéutica personalizada, adaptada a cada caso en función de la sensibilidad individual a los efectos terapéuticos e iatrogénicos de los medicamentos. La fabricación de *chips* de ADN, que inmoviliza en un soporte sólido sondas, permite explorar miles de eventos genéticos en poco tiempo. Por ejemplo, se podrá detectar la presencia de mutaciones activadoras de oncogenes, alteraciones de antioncogenes, modificación de genes de susceptibilidad, etc.

El empleo de los *chips* permite esperar que las personas con determinadas afecciones podrán recibir un tratamiento mejor adaptado a la forma etiológica de su enfermedad y de su “acervo genético”, en términos de eficacia y de minimalización de riesgos de toxicidad.

La terapia génica: un concepto evolutivo

La terapia génica podría definirse de varias maneras, pero tal vez el significado menos restrictivo sea el de la utilización de un gen como molécula medicamentosa. En realidad no es un concepto nuevo, pues en un principio se veía la terapia génica como un trasplante de genes al igual que uno de órganos, en donde el órgano sano suplía la función del defectuoso, por lo que se pensaba que este tipo de terapia estaría reservado a las enfermedades genéticas. De hecho, además de las afecciones hereditarias, todos los tratamientos de sustitución que emplean proteínas recombinantes podrán ser reemplazados por la transferencia de los genes que codifican para esas proteínas. Además de esta terapia génica de “prótesis”, la perspectiva de poder llevar a cabo una reparación directa de los genes mutados ha dejado de ser ciencia ficción.

¿Terapia germinal o terapia somática?

La transgénesis, como se aplica para fines terapéuticos en modelos murinos (de ratón) de enfermedades humanas, constituye el arquetipo de lo que llamamos terapia germinal. El gen introducido desde una etapa precoz de la embriogénesis estará presente en todas las células del organismo y, por consiguiente, se transmitirá a la descendencia. En realidad hay muy pocas indicaciones en las que se podría aplicar al hombre, ya que solamente las afecciones dominantes en estado homocigoto, que son excepcionales, se verían beneficiadas por un tratamiento de este tipo. En todos los demás casos una proporción de la descendencia no son portadores de la mutación, y en consecuencia basta con transplantar al útero materno los embriones sa-

nos, en vez de introducir un gen corrector cuyo efecto terapéutico en los embriones mutados es incierto.

En cambio, la terapia génica somática busca corregir una mutación o introducir un nuevo gen en un tejido determinado, o incluso en un tipo celular específico, sin modificar la herencia del paciente. Las aplicaciones para este tipo de terapia son muy variadas, y a partir de este momento sólo nos referiremos a este tipo de terapia génica a lo largo del texto.

¿Transferencia de células o de genes?

De manera un poco esquemática se puede decir que hay dos estrategias distintas para introducir un gen en un organismo: la transferencia directa o la transferencia de células genéticamente modificadas *ex vivo* es decir, transformadas fuera del organismo. La estrategia directa, *in vivo*, parece ser técnicamente más sencilla puesto que consiste en aportar directamente el gen de interés al órgano afectado. Ésta se utilizará preferentemente en los casos en los que se disponga de una vía fácil de acceso al tejido blanco, cuando las células que se quieran tratar no se puedan extraer, o cuando éstas se encuentren diseminadas por todo el organismo. La mucoviscidosis, que afecta sobre todo a las células epiteliales del tracto traqueobronquial, ciertas enfermedades neurodegenerativas, así como la miopatía de Duchenne, son algunos ejemplos en los cuales se podría aplicar la terapia génica *in vivo*.

La estrategia celular, en cambio, consiste en aislar células del paciente, cultivarlas *ex vivo* e insertarles, generalmente por medio de vectores virales, el gen terapéutico. Esta estrategia se parece a los autotransplantes. Entre las enfermedades susceptibles a ser tratadas por este método y para las cuales los primeros ensayos clínicos, desgraciadamente aún raros, dieron resultados biológicos efectivos, se encuentran el déficit en adenosina desaminasa y la hipercolesterolemia familiar debida a la falta de receptores LDL. En el caso del déficit en adenosina desaminasa, los linfocitos aislados de niños afectados fueron infectados con un vector retroviral que contenía una versión normal del gen y, posteriormente, se volvieron a introducir en los pacientes. Las respuestas inmunológicas de los enfermos tratados mejoraron notablemente de manera durable. En el caso de la hipercolesterolemia, los hepatocitos de los pacientes se aislaron a partir de una biopsia hepática, se pusieron en cultivo y se indujo su proliferación al mismo tiempo que se infectaban con un retrovirus que contenía el gen del receptor LDL. Estos hepatocitos tratados fueron reinyectados a los pacientes por vía intraportal, sin embargo, el tratamiento no resultó muy eficaz. Posiblemente esto se debe a que la técnica, sin duda muy pesada, está además limitada por el número de células que se pueden corregir y reimplantar.



Cualquiera que sea la estrategia que se emplee, la directa o la celular, hay que notar que es posible hacer secretar una proteína potencialmente terapéutica a un tipo celular que normalmente no la produce. Esto permite escoger un tipo celular que sea capaz de secretar de manera eficaz una proteína terapéutica, aunque no sea el blanco principal de la enfermedad, lo cual resulta en más posibilidades terapéuticas. De la misma forma, las células modificadas pueden ser reimplantadas en un lugar que no corresponda con el tejido de origen. Por ejemplo, algunos experimentos con mamíferos grandes, como los perros, mostraron que es posible programar fibroblastos para que secreten una proteína lisosomal. Cuando se implanta en la cavidad peritoneal del perro un tejido sintético inerte constituido de fibras de colágeno y factores de crecimiento, llamado organoide, que espontáneamente se vasculariza, los fibroblastos secretan de manera activa la enzima.

Medicina regenerativa

Uno de los factores limitantes es la necesidad de obtener un buen número de células corregidas para poder generar un efecto terapéutico. Por lo tanto, si se les pudiera conferir alguna ventaja para su proliferación se incrementaría la eficacia de la estrategia. En este sentido, los resultados obtenidos por el equipo de Alain Fisher en el hospital Necker de París en el tratamiento de niños con un déficit inmunológico, son particularmente interesantes. En este caso, la introducción del gen normal en las células hematopoiéticas de los pacientes produjo una ventaja proliferativa a las células modificadas sobre las que residen en la médula. Esto permite explicar la extraordinaria eficacia



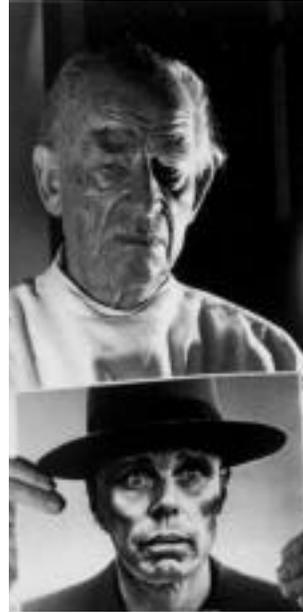
que obtuvieron con el tratamiento a pesar de que el número inicial de células corregidas era muy bajo. Este concepto de “medicina regenerativa” no se limita al tejido hematopoiético, también se ha demostrado que funciona en el tejido hepático del ratón. Como el hígado posee la capacidad espontánea de regenerarse, es posible, confiriéndoles una ventaja selectiva a los hepatocidos reimplantados, inducir la proliferación de los hepatocitos corregidos en detrimento de los hepatocitos residentes y, de esta manera, asistir a la población progresiva del hígado con células modificadas. Este concepto tendrá, probablemente, grandes aplicaciones en la terapia génica del tercer milenio.

Desde la perspectiva del empleo de células con una ventaja proliferativa, las células madre son muy atractivas, ya que constituyen, al menos en teoría, un reservorio casi ilimitado de células diferenciadas potencialmente útiles en terapia génica. Desde algunos años parece que nuestro patrimonio de células madre de hígado, músculo e, incluso, de cerebro, es mucho más grande de lo que imaginábamos.

Así, hemos podido observar células neuronales que se diferencian en células hematopoiéticas, células hematopoiéticas en hígado o músculo, e incluso hemos podido aislar células de músculo esquelético capaces de colonizar la médula. Este tipo de células parecen adaptar su comportamiento al medio en el que se encuentran, como si fueran una especie de camaleón. Ser capaces de aislar, cultivar y hacer proliferar este tipo de células sin duda permitiría revolucionar la terapia por autotransplante de células, genéticamente modificadas o no, de todos los tipos de afecciones para las cuales la única posibilidad terapéutica es el transplante.

Terapia génica aditiva o cirugía reparadora

Los primeros esfuerzos de terapia génica fueron dirigidos a las enfermedades genéticas. La adición de una copia normal del gen permite pasar, al menos en los casos de las enfermedades recesivas, de un estado homocigoto que presenta la enfermedad, a un estado heterocigoto fenotípicamente sano. Sin embargo, la necesidad de transmitir el gen a todas las células del tejido afectado por la enfermedad y de que la proteína terapéutica se exprese durante toda la vida del paciente ha restringido de manera considerable la eficacia terapéutica de los ensayos clínicos planeados hasta ahora. Si bien, el concepto es muy elegante, su realización es, por lo pronto, delicada. Otra posibilidad, considerada por mucho tiempo como mítica, se ha abierto recientemente: se trata de la posibilidad de reparar el sitio del gen mutado, como un tipo de cirugía estética. Esta posibilidad, realmente revolucionaria, de poder cambiar la porción mutada de un gen por su contraparte sana, se basa en el hecho de que las dobles hélices de ARN-ADN son más estables que las de ADN-ADN. En los casos en los que se conoce la secuencia mutada basta con introducir una secuencia muy corta de ARN-ADN en las células donde la mutación es deletérea, para corregir la zona mutada. Esta técnica, también conocida como quimeroplastia, tiene la gran ventaja de que no introduce ninguna secuencia exógena al genoma de las células tratadas. Hasta ahora solamente se ha probado en animales pero ya ha dado resultados espectaculares en distintos modelos de enfermedades humanas, como la hemoglobina, donde fue posible corregir 30% de las células hepáticas, o en un modelo de Crigler-Najjar, una hiperbili-



rrubinemia severa. Sin embargo, es necesario recalcar que esta cirugía sólo se aplica a casos de mutaciones puntuales, ya que no funciona más que para un número muy pequeño de pares de bases, y que en un gran número de enfermedades cada paciente necesitaría su propia terapia.

El geneticista que desde hace más de veinte años clona genes e identifica las mutaciones responsables de las enfermedades genéticas sin poder realizar su sueño de repararlas, no podría esperar mejor recompensa a sus esfuerzos que la obtención de resultados equivalentes en humanos.

Un resultado promisorio

Frecuentemente se le reprocha a las estrategias de terapia génica el hecho de ser extremadamente caras y difícilmente gene-

ralizables. A pesar de ello, esta intensa actividad de investigación ha llevado a una aplicación marginal del ámbito de la prevención más que de la terapéutica, que podría revelarse como extremadamente eficaz y poco costosa: la vacunación. En efecto, ahí donde la terapia génica fracasa por causa de la eficacia restringida de la transferencia de genes y por los límites temporales de la expresión, la vacunación por inyección de ADN desnudo, que no requiere más que una pequeña cantidad y una expresión transitoria del antígeno, podría constituir una vía futura. La inyección intramuscular de ADN desnudo que codifica para los antígenos ha permitido desencadenar una respuesta inmune de tipo celular y humoral. El uso extensivo de este método para la vacunación antiviral en países en vías de desarrollo sería suficiente para justificar todos los esfuerzos emprendidos hasta este momento. 🌿

Helène Gilgenkrantz • Jacques Emmanuel Guidotti • Axel Kahn.
Institute Cochin de Génétique Moléculaire, INSERM U129, París.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Este artículo fue elaborado con base en una extensa bibliografía especializada que se podrá consultar en la página electrónica de la revista que estará próximamente disponible.

CREDITOS FOTOGRAFICOS.

P. 15: Michal Mackú, sin título (núm. 8), 1989; Edward Weston, *Sunny Corner in an Attic*, 1920. P. 16: Gor-

don Parks, *Retrato de la historia de Harlem*, 1948. P.17: Georgii Petrussov, *Caricatura de Rodtchenko*, 1933-1934. P. 19: Gieraltowski Krzysztof, *Andrzej Gwiasda Inzyniew*, 1981. P. 20: Man Ray, *Autorretrato*, 1957; Eikoh Hosoe, *Ordeal by Roses*, 1962. P. 21: G. Helnwein, *William S. Burroughs*, 1990; G. Helnwein, *Michael Jackson*, 1988; G. Helnwein, *Arno Breker*, 1988; *Andy Warhol*, 1983.

TRADUCCION.
Nina Hinke.