

FORMACIÓN CONTINUADA

PARA FARMACÉUTICOS DE HOSPITAL

3.4

ACTUALIZACIÓN TERAPÉUTICA: TERAPIA GÉNICA

Dr. Marcos Isamat
Director Científico
Fundación Echevarne



sani-red



SUMARIO

1 Introducción

- 1.1 Secuencias de ADN
- 1.2 El genoma y la identificación estructural y funcional de un gen
- 1.3 Conceptos básicos de genética celular

2 Terapia génica somática y terapia génica germinal

3 Terapia génica *In vivo* y *Ex vivo*

4 Transferencia génica o *Gene delivery*

- 4.1 Retrovirus
- 4.2 Adenovirus
- 4.3 Virus asociados a los adenovirus
- 4.4 Liposomas
- 4.5 DNA desnudo

5 Ingeniería genética en terapia génica

- 5.1 Diseño general
- 5.2 Terapia génica para la corrección de la deficiencia en una proteína
- 5.3 Terapia génica para la corrección del exceso de función de una proteína

6 Conclusión

7 Bibliografía

1. INTRODUCCIÓN

La terapia génica es la corrección de un defecto genético causante de enfermedad. Este concepto médico ya se planteó a principios de los años 70, cuando empezaban a identificarse los primeros genes en organismos como la bacteria *Escherichia coli* o en la *Drosophila melanogaster*, la mosca del vinagre. Ambos modelos de estudio han proporcionado las bases genéticas de la medicina actual. Los estudios actuales sobre genes de organismos más complejos, entre ellos el humano, no son más que el resultado y la extensión de todos estos modelos establecidos hace ya más de cuarenta años.

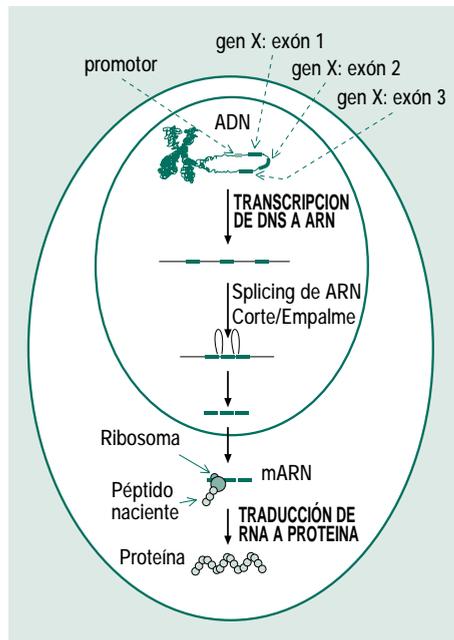


Figura 1. Célula transcripción/traducción

Los procesos genéticos y bioquímicos básicos de la célula, la replicación del DNA (ácido desoxirribonucleico), activación de un gen, transcripción y procesamiento del mRNA (ácido ribonucleico mensajero), traducción del mRNA en proteína, degradación del RNA, tráfico intracelular de proteínas, y programación de la división y muerte de una célula, son prácticamente idénticos a través de toda la escala evolutiva. Con las bases de la genética bien asentadas, sólo falta la adquisición de los detalles propios de cada especie para poder abarcar la terapia génica de un modo práctico. Estos detalles vienen en forma de secuencias de ADN de los genes específicos de cada especie, y de la identificación estructural y funcional de estos genes.

1.1 SECUENCIAS DE ADN

Desde hace más de quince años, las secuencias de los genes que se obtenían a través de técnicas manuales con el consiguiente esfuerzo económico y técnico se han ido gradualmente almacenando en unas bases de datos informáticos internacionales accesibles a los investigadores. La identificación de un gen en la mosca de la fruta o en cualquier otro organismo, suscitaba la búsqueda de ese mismo gen en el ser humano, y esto era posible dado los altos niveles de conservación entre las

especies, en otras palabras, la secuencia del gen era muy parecida entre ambas especies. Casi inevitablemente, estas búsquedas de secuencias de ADN análogas entre por ejemplo, la *Drosophila* y el ser humano, resultaba en la identificación de genes equivalentes o similares. El resultado era todavía más seguro si se partía de una secuencia de DNA de una especie más cercana al hombre, por ejemplo, el ratón. Poniendo en evidencia lo que ya se ha dicho antes, que los enzimas o proteínas involucrados en las funciones básicas y vitales de una célula son compartidos por todas las especies, y de ahí que las secuencias de los genes que codifican estas proteínas sean tan parecidas. Con la ejecución de los grandes programas de secuen-

ciación automatizada de genomas, como el proyecto genoma humano completado en 2000, la velocidad de identificación de secuencias funcionales o genes se ha disparado, y con ello la posibilidad de su utilización en beneficio la salud.

1.2 EL GENOMA Y LA IDENTIFICACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE UN GEN

El genoma está compuesto por una larga molécula lineal de ADN, formada por cuatro bases nitrogenadas o nucleótidos A, T, C, G (adenina, timina, citosina, guanina) unidas por un grupo fosfato. Esta larga sucesión de cuatro bases sobre un "hilo" de fosfatos se

promotor	accgctggcc gcgaggggag agcccaaaagt	ccagggaag cagcgcggg agaactgcat	ccgagcggc gcgcacgagg gtccaactag	accgagccgg gcaccatgac acggatccat	cagagacca ccagacgccc caagcctgaa	ccgagcggc gccttcgaca accatcttat	61 121 181
exón 1	actatggcag tcattggcat tgcctgctat	gaggagagg ggacaagccg cgcgggctgc	atcgccctcc ctcacccttc cgggaggcta	cagctaacac cagacttctc tcaaaaggat	agcagagggg ggcctaattt cgctatgag	ctgctgaacg gactactaca ttfctagaga	241 301 361
intrón 1	tgaaggcaca actcacaagt tggtgccct	agagggcgtg ggagccaatc agtggccag	gtgtatgtg ccctggaacc ggcctgcagg	aggtgcgga aggctgaagg agggggagcg	cagtccgac ggacctacc agacttcggg	ctgctggcca ccagacgagg gtcaaggccc	421 481 541
exón 2	ggtccatcct glaagaacta caggaagcag	gtgctgcatg ccagcagcag cctcttgcc	cgccaccagc accgtgtag ggacatgtcc	ccaactggtc ccattgacct aggcctacca	ccccagggtg ggctggagat ggaggctgtg	gtggagctgt gagaccatcc aagagcggca	601 661 721
intrón 2	ttcacgctac acatactcaa ataacaggct	tgtccaagcc gacagagcgg gcggcaggaa	ggggaggtg ctgggacag aacatgcact	gctcggccga gctaccacac tcgagatctg	agtagtaaaa cctggaagac ccccgtgtcc	gaggctgtg caggcccttt agctacccta	781 841 901
exón 3	ctggtgctg actactcgt agatgaccaa	gaagccggac caacacagat acgggacatg	acggagcatg gacccgctca ggctttactg	cagtcattcg gacccgctca aagaggagtt	gtcaaaaaat cacccctggac taaaaggctg	gaccaggcta actgattacc aacatcaatg	961 1021 1081
intrón 3	cgcccaaatc aagcctatgg ccaagccttc	ta gtttctc gatgccacct accctgtgga	ccagaagatg tcagcctctg gtcaccctca	aaaagagggg cagggcagaa ctctgtgggg	gcttctcgac cctctgaaga ctgagcaaca	ctgctctata cgccactcct tttttcaatt	1141 1201 1261
	tattccttc gtccaattc cctggcaggg	aagaagacca tgcacacacg accagcggcc	tgatctcaat tatacctcgg ttgcacatgg	agtcagttac catggccgcg gcatggttga	tgatctcct tcacttctct atctgaaacc	gaaccctatg gattatgtgc ctccttctgt	1321 1381 1441
	ggcaactgt	actgaaaatc	tggtgctca	taaagaagcc	catggctggt	ggcatgc	
atggcaggagagagggatgccctccagctaacacagcagaggggctgccaggcctaccagga ggctgtgaagagcggcattcaccgtactgtccacgcccggggagggtgggctcggccgaagtgtc cctggacactgattaccagatgacaaacgggacatggccttactga							ARNm

Figura 2. Célula transcripción/traducción

empaqueta enrollándose sobre sí misma como un ovillo para generar los cromosomas, visibles microscópicamente en el núcleo de una célula en división. Los genes se distribuyen a lo largo del genoma de forma aparentemente indistinguible de las secuencias que los limitan. Algo parecido a la identificación de una palabra en una “sopa de letras” lineal. En el caso del pasatiempo la identificación es posible porque conocemos el lenguaje, en el caso genético, todavía falta acabar de establecer las reglas “sintácticas” del código o lenguaje.

La estructura del gen se compone de varias zonas. El gen per se, es la secuencia de DNA que codifica la proteína (exón) y se ve interrumpida por secuencias no codificantes (intrón) que no contienen información sobre la proteína y sirven de “espaciadores”. Además, antes del gen existe una secuencia, específica para cada gen, que se llama región promotora o promotor. Esta secuencia regula la expresión del gen que le precede. Es decir, controla que la fabricación de la proteína que codifica ese gen se haga en la célula que la necesite y en el momento que la necesite. De ahí, que la identificación estructural de un gen no sea siempre evidente y se deban buscar motivos específicos de la secuencia para delimitar el inicio de la transcripción y las fronteras entre exones e intrones.

La identificación funcional de un gen tampoco es fácil. Muchas veces se ha identificado la secuencia (o estructura) de un gen, pero se desconoce la función o el papel fisiológico que juega la proteína que de él se fabrica. Esto es común a muchas secuencias que se han identificado fruto del proyecto genoma humano, y cuyas funciones biológicas se desconocen. Existen varias maneras de averiguar la función fisiológica de un gen, y a menudo son necesarios varios enfoques. Se puede desactivar ese gen específico del genoma de un organismo vivo, por ejemplo un ratón, generando un ratón *knockout*, y después evaluar los síntomas que el animal *knockout* padece. No obstante, la mayoría de las funciones de genes involucrados en enfermedades genéticas hereditarias se han descubierto al comparar fragmentos del genoma de individuos afectados por la enfermedad y de individuos sanos, y su función se ha inferido por el defecto fisiológico que los enfermos padecen.

Sea como fuere, la identificación de nuevos genes siempre lleva consigo la posibilidad de su uso terapéutico. El planteamiento de esta modalidad terapéutica es conceptualmente sencillo. Una vez se ha identificado el gen cuya alteración provoca enfermedad, se corrige la alteración por inserción del gen normal en las células que contengan la versión mutada y se restablece la función curando así la enfermedad. No obstante, la inserción de genes terapéu-

ticos en células conlleva problemas técnicos que todavía están siendo investigados: se verán a continuación. Antes se expondrán los rudimentos sobre el funcionamiento de los genes a modo de recordatorio para los lectores no iniciados.

1.3 CONCEPTOS BÁSICOS DE GENÉTICA CELULAR

Todas las células de un organismo tienen el mismo contenido genético, todas tienen los mismos genes, y es tan importante tenerlos como activarlos en la célula que los necesite y en el preciso momento en el que surja la necesidad. No está de más recordar en este punto, que los órganos están formados, separados y comunicados por tejidos. Así, cada órgano (pulmón, hígado, cerebro, etc.) y cada tejido (tejido muscular, vascular, nervioso, etc.) tiene una estructura diferente y una función propia. Un tejido variará de otro en función del tipo de célula que haya utilizado para formarse o “tejerse”. El tipo de célula (pulmonar, hepática, nerviosa, muscular, sanguínea, etc.) se definirá a partir de sus características específicas: sus componentes químicos y sus propiedades físicas. En definitiva, su estructura. Toda célula se separa de otra o de su entorno por una envoltura, la membrana celular. A través de ella entran nutrientes y se reciben o envían señales químicas que determinan la acción y función de esa misma célula o de cualquier otra de su entorno. En el interior de la célula, en un espacio conocido como citoplasma, se degradan los nutrientes recibidos para fabricar componentes estructurales de la célula o

señales de comunicación, siguiendo la información que se encuentra en el núcleo celular. Esta información se encuentra codificada en genes dentro de los cromosomas del núcleo de la célula.

Los genes son “zonas” delimitadas de los cromosomas, hechos de DNA y residen en el núcleo de todas las células de un organismo. Al conjunto de los genes de una célula (o de un organismo, ya que el conjunto de genes es el mismo en todas sus células) se le denomina genoma. La función de un gen es:

- 1) expresar o “fabricar” la proteína para la cual encierran información y
- 2) perpetuar esa información durante la división celular.

De ahí que el término “genética” haga referencia tanto a la producción de proteínas como a cuestiones de herencia. Siguiendo la información codificada en un gen, éste fabricará un único tipo de proteína, por ejemplo, un componente estructural de la membrana celular, una proteína para comunicarse con otras células, un componente del metabolismo en el citoplasma, o un “replicador” de cromosomas del núcleo garantizando, después de su división, el mismo número de genes de la célula madre en las dos células hijas. Todo gen tiene una función específica en la vida de la célula y el conjunto de las proteínas que fabrique le conferirán sus características específicas. Es decir, el conjunto de los genes expresados en una célula la definen como un tipo celular concreto con una estructura y función propias.

Lo que hace que un linfocito sea tal y como debe ser es su contenido en proteínas. Son éstas las que le darán su forma esférica característica, las que le proporcionarán sus mecanismos de movilidad para que pueda salir de las venas y adentrarse en un tejido infectado, las que le permitirán dividirse si el organismo tiene necesidad de más linfocitos en su sangre en cualquier momento, etc. En el caso de la neurona, también son las proteínas las que hacen que la neurona obtenga su peculiar forma piramidal, que pueda transmitir señales eléctricas a través de sus dendritas y comunicarse con otra neurona, que no pueda reproducirse en el animal adulto y que pueda establecer conexiones nuevas cuando interese. A este nivel, lo que diferencia a un linfocito de una neurona, son las diferentes proteínas que tiene cada una de ellas. Es lo mismo que decir, que las diferencias entre uno y otro tipo de célula vienen dadas por los diferentes genes que se expresan (fabrican proteínas) en cada tipo celular.

Para evitar confusiones de términos, es importante reconocer la expresión de los genes (fabricación de proteínas específicas por una célula) como la diferencia principal entre dos o más tipos de células, como lo son un linfocito y una neurona, ya que ambas tienen exactamente los mismos genes en sus cromosomas, los mismos que el resto de las células del organismo. Lo que las dife-

rencia es cuantos y cuales, del total de sus genes, se están expresando en una y otra célula.

2. TERAPIA GÉNICA SOMÁTICA Y TERAPIA GÉNICA GERMINAL

La terapia génica hace referencia a dos tipos de enfoques conceptualmente diferentes. Todos los ensayos clínicos de terapias génicas llevados a cabo en humanos, tienen como objetivo la corrección de un defecto genético en células somáticas, es decir, en las células que no son ni espermatozoides ni óvulos. Esto es la terapia génica somá-

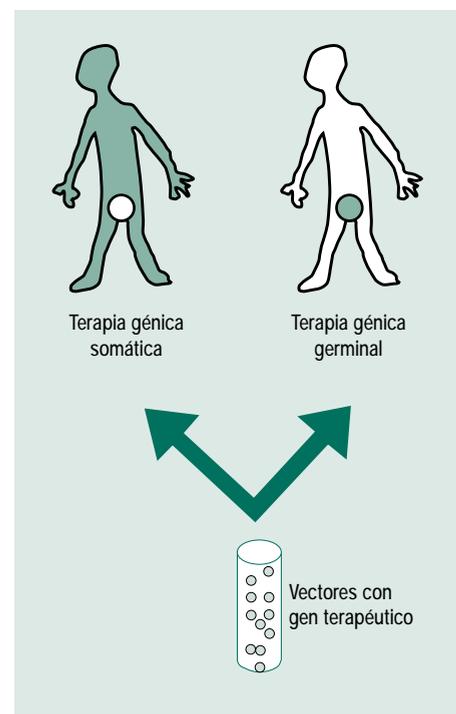


Figura 3. Terapia somática versus germinal.

tica, donde la corrección del defecto genético no se transmite a los descendientes, ya que la línea germinal del paciente tratado no está manipulada. La inserción de un gen terapéutico en óvulos, espermatozoides o en un óvulo fecundado, se conoce como terapia génica germinal, y dado que ésta no se ha realizado en humanos porque la legislación actual lo prohíbe, no se tratará este tipo de terapia génica en este capítulo.

La terapia génica somática ha centrado sus actuaciones sobre enfermedades hereditarias bien definidas cuyo defecto genético reside en un único gen, las llamadas enfermedades **monogénicas**. Estas podrían ser del tipo de las hemofilias, fenilcetonuria, deficiencia de ADA (adenosina desaminasa), fibrosis quística, distrofia muscular, hipercolesterolemia familiar, etc. Enfermedades hereditarias cuyo defecto genético es fácilmente confirmable en los portadores, y altera el funcionamiento de un tipo celular concreto y más o menos accesible a los genes terapéuticos externos. Las enfermedades provocadas por la alteración de más de un gen, o por la falta de coordinación de varios genes, las llamadas **poligénicas**, son lógicamente más complejas de abordar y de momento se desestima la terapia génica para su posible tratamiento.

El cáncer es una excepción, ya que aunque el cáncer engloba más de doscientas enfermedades diferentes, todas tienen en común los mismos mecanismos de enfermedad: la división celular incontrolada y/o la ausencia de muerte celular programada. Ambos meca-

nismos son controlados genéticamente y regulados por más de un gen. El cáncer responde a la acumulación de errores o mutaciones durante la vida del individuo en más de un gen de los que controlan la división y la muerte en una misma célula somática y ésta acaba generando el tumor. Por ello, el cáncer es estrictamente una enfermedad poligénica. No obstante, la terapia génica se ha utilizado en ciertos modelos de tumores con el fin de activar el suicidio de las células cancerosas. Este tipo de terapia génica se tratará más adelante.

Antes de poder evaluar los ensayos de terapia génica en humanos, es importante entender cuales son las dificultades técnicas de la introducción de un gen terapéutico en una célula. Para ello se debe primero distinguir los dos tipos básicos de la terapia génica somática. La terapia génica *in vivo* y la terapia génica *ex vivo*.

3. TERAPIA GÉNICA IN VIVO Y EX VIVO

Esta clasificación de la terapia génica responde al lugar donde se produce la manipulación genética de las células. La terapia génica *in vivo* aborda la modificación genética de la célula en el interior del organismo, o sea, la introducción del gen terapéutico en el lugar normal de "residencia" de la célula en un organismo. Por ejemplo, la modificación de células pulmonares o hepáticas con una versión correcta del gen de la alfa-1 antitripsina en pacientes con enfisema pulmonar o cirrosis fruto de esta deficiencia, o en la intro-

ducción del gen de la distrofina en tejidos musculares en pacientes de distrofia muscular. En el caso de la terapia génica *ex vivo*, la manipulación genética ocurre fuera del organismo, en un tubo de ensayo. En este caso, se extraen las células del paciente, se cultivan en el laboratorio, se les introduce el gen terapéutico y se reinfunden en el paciente. Este proceso es más fácil con células del sistema hematológico. La obtención de médula ósea, purificación de células madre, su manipulación en el laboratorio, y la introducción de la célula madre con la versión funcional de un gen de vuelta en el paciente ha servido por

ejemplo para el tratamiento de la inmunodeficiencia combinada severa (SCID) por deficiencia de ADA. La introducción del gen ADA funcional en las células progenitoras del sistema inmunológico han curado ya a niños con SCID, los conocidos como niños burbuja, en unos ensayos clínicos.

Lógicamente, el método de introducción de un gen terapéutico dependerá del tejido diana de la terapia, y del objetivo de la terapia, pero todos los métodos de transferencia conllevan unos problemas intrínsecos, actualmente en vías de resolución.

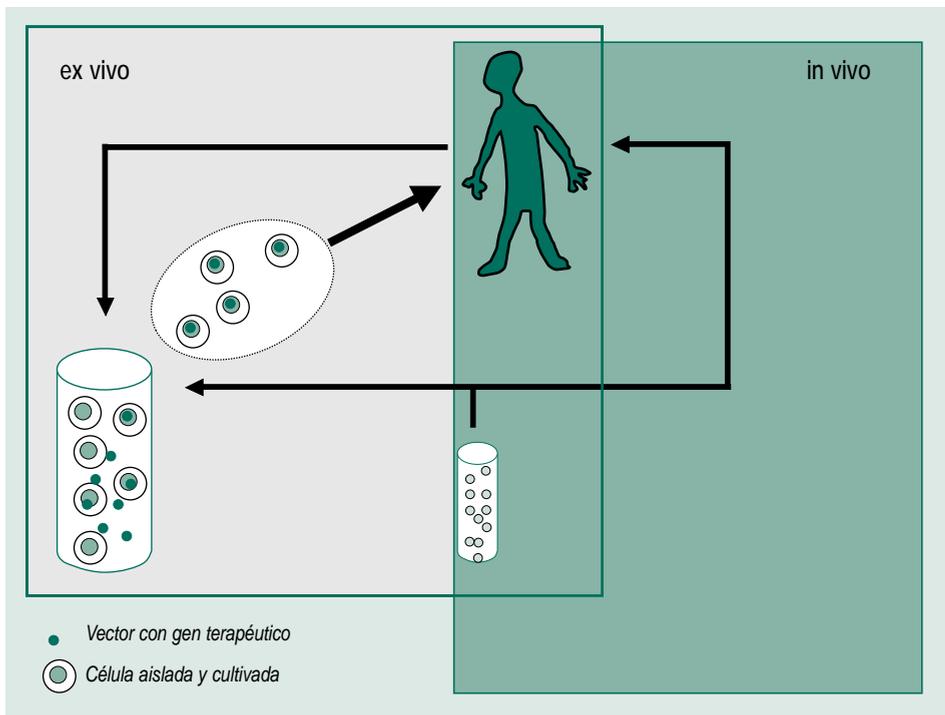


Figura 4. In vivo /ex vivo

4. TRANSFERENCIA GÉNICA o GENE DELIVERY

El problema de cómo hacer llegar un gen terapéutico a una célula diana deficitaria de esa función es el mayor obstáculo de la transferencia génica, más conocida por la expresión inglesa *gene delivery*. Este proceso es particularmente difícil en la terapia génica in vivo, ya que los tejidos u órganos diana, o los focos tumorales ocultos, no siempre son accesibles.

Para cualquier tipo de *gene delivery* se necesita un vector de transferencia que transporte, proteja y transfiera el gen terapéutico de forma segura y eficaz y que además le confiera la especificidad de alcanzar únicamente a las células diana. El vector es la clave del éxito de la terapia génica. Un virus es algo más que un grupo de genes que se autorreplican cubiertos de una cobertura con proteínas que le dan entrada específica a un tipo celular concreto. Por ello, tradicionalmente, se ha aprovechado el cromosoma de virus

humanos con especificidad natural para determinados tejidos, después de haber reemplazado algún segmento génico que le confiriera virulencia al virus, por el gen terapéutico. Actualmente también se están desarrollando otro tipo de vectores no basados en virus. Esto se debe al peligro que encierra el desconocimiento que tenemos sobre la posibilidad de recombinación de los vectores víricos con virus endémicos latentes en el ser humano, y la posibilidad de generar nuevos virus con capacidad infecciosa desconocida, tanto para el paciente tratado como para el resto de la sociedad. Sobre todo con los retrovirus, cuya capacidad de inserción en el cromosoma celular ha sido vista en los últimos años como una gran ventaja para este tipo de terapias.

Inicialmente se deseaba que el objetivo de inserción del gen terapéutico en el cromosoma celular fuese el lugar preciso de su versión defectuosa. Esto es muy difícil de controlar y ahora sabemos que no es necesario, y que el gen terapéutico se puede inte-

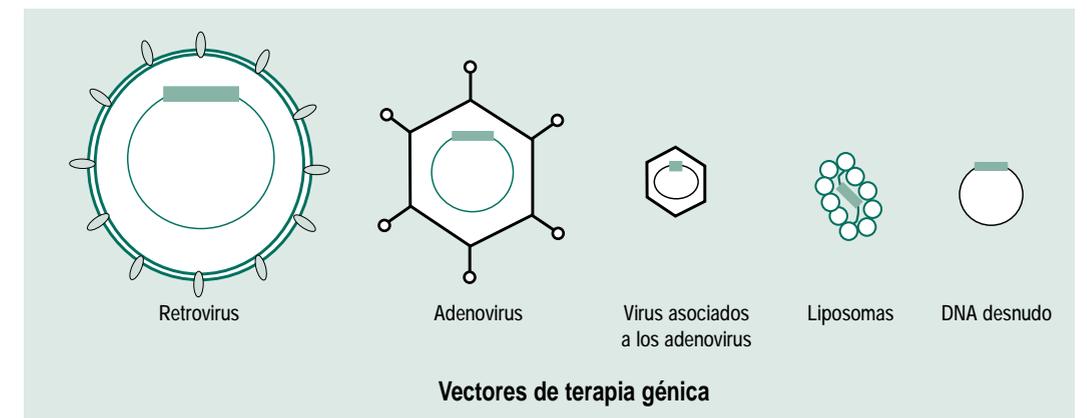


Figura 5. Vectores de terapia génica.

grar y producir la proteína o ejercer su función curativa desde otras localizaciones, ya sean dentro del cromosoma o de forma extracromosomal, como es el caso de los episomas o minicromosomas autónomos.

Los principales tipos de vectores son: Los **Retrovirus**, los **Adenovirus**, los virus asociados a los adenovirus, los liposomas y el DNA desnudo (o naked DNA).

4.1 RETROVIRUS

Los Retrovirus introducen sus genes de forma permanente en el cromosoma de las células que invaden. Una vez el retrovirus se ha integrado en el cromosoma, sus genes se copian y se transfieren a todas las células descendientes de la célula invadida. Esta característica ha hecho de los retrovirus un candidato de mucho interés científico y utilidad para la introducción de genes terapéuticos en células madre o *stem cells*. El problema de este tipo de virus, como ya se ha comentado, es que son altamente promiscuos e inseguros, depositan sus genes en muchos tipos celulares y son inútiles para la inserción de genes en células que raramente se dividen, como las neuronas o las células del músculo esquelético. Además, la integración del cromosoma viral se produce en lugares cromosómicos impredecibles, aumentando el riesgo de que la propia integración altere lugares críticos donde

residan genes de control de la división celular, reparación del DNA o programación de la muerte celular, pudiendo ser potencialmente oncogénicos.

La falta de especificidad de diana de los retrovirus se ha estudiado con retrovirus quiméricos derivados de virus humanos y virus de otras especies animales. Por ejemplo, la especificidad de infección reside en las proteínas de la cubierta del virus, y éstas son sustituibles en el cromosoma del virus. Así, se ha conseguido sustituir una proteína de la cubierta del virus de la leucemia del ratón (MLV) por la del virus de la estomatitis vesicular humana (HVSV) y cambiar la especificidad del MLV por células humanas. En la actualidad se están probando vectores basados en estas quimeras víricas, sobre la base de que el MLV no produce enfermedades conocidas en el hombre y que los niveles de fabricación de proteína a partir de un gen terapéutico insertado en su genoma pueden ser regulables y apropiados para su uso en terapias. También se ha estudiado el virus de la inmunodeficiencia humana VIH, retrovirus causante del SIDA, como un posible vector de transferencia génica en células que no se dividen, como por ejemplo en el cerebro, pero el peligro de que existan residuos patogénicos del VIH u otros retrovirus está siendo evaluado con suma cautela por la comunidad científica. El potencial infeccioso de estos virus por mutagénesis, recombinación y replicación dentro del orga-

nismo debe ser cuidadosamente evaluado antes de llevarlo a la práctica como vector de terapia génica.

4.2 ADENOVIRUS

El adenovirus humano presenta un modelo de vector de transferencia de notable seguridad, con un riesgo de enfermedad asociada a la terapia de, a lo sumo, un resfriado. Estos virus infectan células humanas con mucha facilidad, y su potencial para su uso como vectores de genes es muy alto debido a ello. Además el adenovirus puede infectar células independientemente de si están en división o no y los niveles *in vivo* de fabricación de proteína a partir de un gen exógeno son muy elevados. Los adenovirus raramente se integran en el cromosoma de las células que invaden, aunque sí introducen sus genes en el núcleo de ésta. Esto quiere decir que el gen terapéutico acaba desapareciendo y con él su función terapéutica. Por otro lado, esta aparente desventaja puede ser utilizada para tratamientos que requieran transitoriedad, y repercute directamente en la seguridad del tratamiento. Éste puede ser repetido con cierta periodicidad convirtiendo a la enfermedad en una condición crónica sintomática, y aunque se escape de lo que es estrictamente curativo, sí puede ser una buena y segura solución para muchas enfermedades.

La mayor desventaja del uso de adenovirus en terapia génica es que poseen una baja especificidad celular, lo que complica la infección selectiva de células en *procedimientos in vivo*, y la respuesta inmunológica que sus-

citan puede llegar a ser lo suficientemente importante como para provocar la muerte de las células infectadas por el vector. Estos son dos de los campos en los que se está trabajando para evitar estos problemas: la necesidad de derivar nuevos vectores basados en adenovirus de donde se hayan desechado o alterado los genes que provocan la respuesta inmunológica.

4.3 VIRUS ASOCIADOS A LOS ADENOVIRUS

Los virus asociados al adenovirus no producen enfermedades conocidas en el humano y no pueden replicarse en ausencia de un virus coinfectante, por ejemplo un adenovirus. Son virus pequeños y con poca capacidad de albergar grandes genes terapéuticos en su interior, no obstante, pueden integrar sus genomas en el cromosoma de la célula huésped y no inducen una respuesta inmunitaria. También poseen la capacidad de infectar neuronas, ya que su pequeño tamaño le permite cruzar la barrera hematoencefálica.

Otros virus como el herpesvirus, el alfavirus o el poxvirus son candidatos a vectores de transferencia. Por ejemplo, el virus herpes simple ha demostrado ser útil en el transporte de genes hasta el interior de las neuronas, y aunque no integre su ADN en el cromosoma de la célula huésped, sí puede hacerlo permanecer en forma de episoma en la neurona durante toda la vida de la célula. Como los adenovirus, los herpesvirus que no han sido modificados pueden ocasionar lesiones celulares e inducir respuestas inmunológicas.

Si bien estos virus son en general muy prometedores para proporcionar un vehículo de transferencia para genes exógenos no se puede desestimar su capacidad de cambiar a formas nuevas que induzcan enfermedades. La ingeniería genética dedicada a la derivación de vectores para terapia génica a partir de estos virus debe hacerlo con suma precaución para evitar este tipo de cambios genéticos a priori imprevisibles.

Para evitar este tipo de problemas, se han empezado a desarrollar vectores de *gene delivery* no derivados de virus. Estos son los liposomas y el ADN desnudo.

4.4 LIPOSOMAS

Para evitar los problemas inherentes a la toxicidad potencial de virus humanos se han diseñado múltiples agentes sintéticos que empaquetan el ADN de forma que éste pueda ser introducido en la célula a la vez que lo protegen de su degradación tanto fuera como en el interior de la célula. Los liposomas son “perlas” de lípidos que contienen un ADN plasmídico en el que se encuentra el gen terapéutico con todas las señales de secuencia necesarias para su expresión en el destino celular de elección. La transferencia a la célula se realiza por medio de la fusión entre los lípidos del liposoma y los de la membrana celular. El mayor problema de esta estrategia es la especificidad de las células diana en

terapias in vivo y la baja eficacia de la transferencia.

La falta de especificidad está siendo corregida por la incorporación de epítopos o pequeños polipéptidos en el revestimiento de estas perlas lipídicas, para fusionarlas sólo en las células diana que presenten moléculas receptoras específicas para estos polipéptidos.

4.5 ADN DESNUDO

Esta estrategia supone la inyección directa de ADN sin ningún revestimiento lipídico o proteico en el interior de la célula. La especificidad en protocolos in vivo sigue resultando un problema aunque esta variante terapéutica ha sido utilizada con cierto éxito en la inmunización contra enfermedades o contra ciertos tipos de cáncer. El ADN desnudo posee la cantidad mínima de ADN para evitar su degradación y pérdida durante la división celular, quedando protegido en el interior de la célula por elementos que permiten su replicación en cada división celular como si fuese un minicromosoma artificial.

5. INGENIERIA GENÉTICA EN TERAPIA GÉNICA

5.1 DISEÑO GENERAL

Para poder reemplazar la función de un gen, o sea, volver a fabricar la proteína

que éste codifica en su contexto celular adecuado, normalmente se utiliza una copia en ADN del mRNA (llamada cADN) de esta proteína clonada en el contexto de un vector de expresión. Este es un “minicromosoma” circular cuyas características más importantes son que es capaz de reconducir la fabricación de la proteína que nos interesa dentro de un contexto celular correcto y que se puede cultivar fácilmente en el laboratorio para producir cantidades suficientes para su utilización en ensayos o terapias específicas. Los vectores de expresión por lo general incluyen material genético procedente de plásmidos (moléculas de ADN extracromosomales de ciertas bacterias) y material genético procedente de virus eucariotas como el virus vaccinia, el citomegalovirus, o más recientemente algún retrovirus. El minigen de interés se posiciona tras un promotor activo en la célula diana y a partir de la cual se comienza la transcripción a RNA y posteriormente a proteína. Los promotores funcionan (empiezan a transcribir) por la acción de los factores de transcripción propios de la célula sin los cuales el minigen no podría expresarse. Así podemos hablar de la utilización casi secuestrada de los mecanismos naturales de una célula para producir la proteína deseada, algo que se debe tener en cuenta para diseñar vectores de expresión que fabriquen la proteína codificada por el minigen en el tipo celular diana, y no en otros tejidos celulares donde la expresión de la misma proteína pudiese causar problemas. Para ello es importante delimitar la especificidad tisular de la región promotora que se incluye en el vector de expresión, es decir, comprobar que

responda a los factores de transcripción específicos del tejido diana en el cual se debe expresar la proteína.

La medicina clásica ha abordado las enfermedades hereditarias tratando las consecuencias biológicas de una mutación; el objetivo de la terapia génica es corregir esa mutación y prevenir así sus consecuencias biológicas. La mutación de un gen puede tener varios desenlaces:

- 1) la proteína deja de fabricarse,
- 2) la proteína se fabrica pero su función es nula o escasa,
- 3) la proteína se fabrica pero su función es excesiva.

Cualquiera de estas alteraciones puede resultar en un mal funcionamiento de una célula y consecuentemente del tejido que utilizan el producto génico normal, causando enfermedad. El método de transferencia del gen terapéutico dependerá de los objetivos terapéuticos.

El enfoque terapéutico de los casos 1) y 2) citados, cuando la proteína en un tejido específico deja de fabricarse, o se fabrica pero su función es deficiente, comparten en cierto modo el diseño básico de re inserción de un gen para el aporte continuo de su proteína en un tejido específico, o corrección de la deficiencia de la proteína correspondiente. Esta es la estrategia preferida para la terapia génica de enfermedades hereditarias monogénicas del tipo de la hemofilia, fenilcetonuria o la deficiencia de ADA (adenosin-desaminasa),

todas ellas provocadas por la falta de una proteína debida a la mutación heredada de su gen correspondiente.

En el caso 3), cuando la función de la proteína es excesiva, el enfoque terapéutico cambia, y el interés se centra en el silenciamiento de una proteína fabricada desde un gen endógeno de la célula. En este caso la estrategia se dirigirá a evitar la producción de una proteína celular, o a provocar la muerte celular específica de la célula que contenga el gen mutado. Esta categoría se puede ilustrar con las terapias génicas experimentales para el tratamiento de enfermedades poligénicas, no hereditarias, como algunos tipos de cáncer o enfermedades infecciosas como el SIDA.

5.2 TERAPIA GÉNICA PARA LA CORRECCIÓN DE LA DEFICIENCIA EN UNA PROTEÍNA

En el tipo de enfermedades causadas por la herencia de un único defecto genético, las conocidas como enfermedades monogénicas, se necesitará la introducción de un gen terapéutico normal que provea al tejido afectado de un aporte continuo del producto de este gen. Para ello, los vectores más indicados son los que integran su DNA, que incluye el promotor y el gen terapéutico, en el cromosoma de la célula. Estos vectores son los derivados de retrovirus o de virus asociados a adenovirus. No obstante se han realizado ensayos con vectores cuya aportación del producto génico en la célula afectada es transitoria, y basta con repetir la administración del gen terapéutico de forma regular para obtener un efecto paliativo a largo plazo.

La inmunodeficiencia severa combinada (SCID) se debe a la falta de la enzima

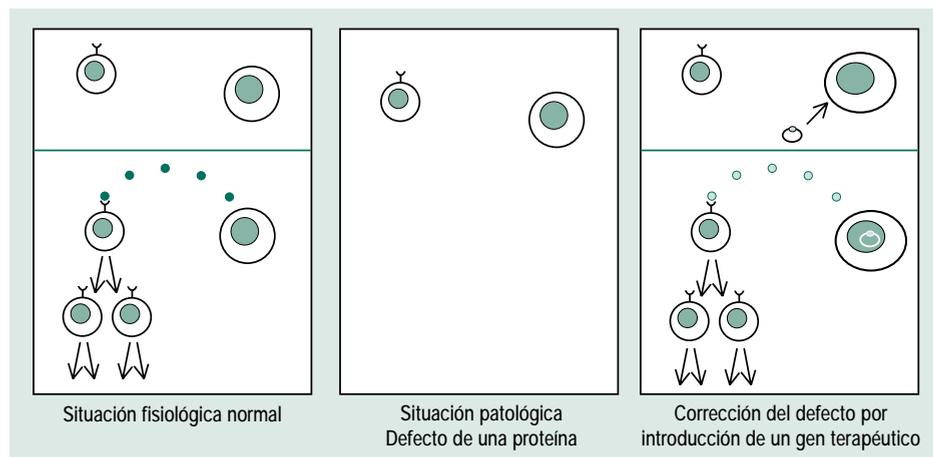


Figura 6. Corrección de déficit de proteína.

adenosina-desaminasa por la mutación en su gen. Esta condición afecta la función de los linfocitos B y T provocando un descenso en la producción de anticuerpos y una deficiencia inmunológica. La SCID puede debutar a partir de los dos primeros años de vida, condición que se conoce como “niños burbuja” incapaces de desarrollar una respuesta inmunitaria adecuada. Los ensayos de terapia génica con ADA comenzaron en 1993 y han resultado tener bastante éxito. La estrategia incluye la inserción *ex vivo* del gen ADA en médula ósea y la reimplantación de la médula ósea en estos pacientes. El tratamiento de trastornos hematológicos es conceptualmente más fácil ya que el gen terapéutico se puede insertar en linfocitos o médula ósea de forma relativamente sencilla, y el “tejido diana” se puede cultivar y seleccionar en el laboratorio antes de su reimplantación. La inserción del gen del Factor VIII en células sanguíneas de pacientes con hemofilia también se ha llevado a cabo con cierto éxito por la misma razón de facilidad de manipulación del órgano diana. Esto no es así en el caso de otros tejidos, que no pueden tratarse *ex vivo*, y por ello el *gene delivery* supone uno de los mayores obstáculos para la terapia génica.

Se han realizado varios ensayos para la reinsertación del gen de la distrofina en células musculares. La ausencia o el mal funcionamiento de la distrofina provoca la distrofia muscular progresiva pseudohipertrofica de los tipos Duchenne y Becker. En este caso, se ha demostrado que el gen terapéutico de la distrofina se puede insertar en el músculo

cardíaco y esquelético de ratones *knock-out*, a los que se les había mutado previamente su gen endógeno de la distrofina. Estos estudios en animales se realizaron mediante la inyección intravenosa de adenovirus recombinantes que contenían una versión corregida del gen de la distrofina, sugiriendo que este tipo de protocolo puede llegar a ser aplicable en humanos.

5.3 TERAPIA GÉNICA PARA LA CORRECCIÓN DEL EXCESO DE FUNCIÓN DE UNA PROTEÍNA

La mayoría de las patologías que nos afectan están debidas a la acción de más de un gen, empezando por las enfermedades infecciosas y acabando por las enfermedades neoplásicas. En particular estas últimas, el cáncer, es un modelo de enfermedad poligénica de gran interés y que está siendo ampliamente investigado desde el punto de vista molecular desde hace más de una década. El cáncer es consecuencia de daños genéticos acumulados desde el nacimiento que provoca el crecimiento descontrolado de una célula. Este crecimiento o división incontrolada puede ser debida al fallo de tres mecanismos básicos. Un fallo en la división celular, un fallo en la regulación de la muerte celular programada o apoptosis, y un fallo en los sistemas propios de la reparación de errores o mutaciones de la célula.

El primer caso lleva a una célula a perder el control de su división, regulada por un centenar de genes y da lugar a un foco tumoral en cualquiera de los tejidos donde se produjo la

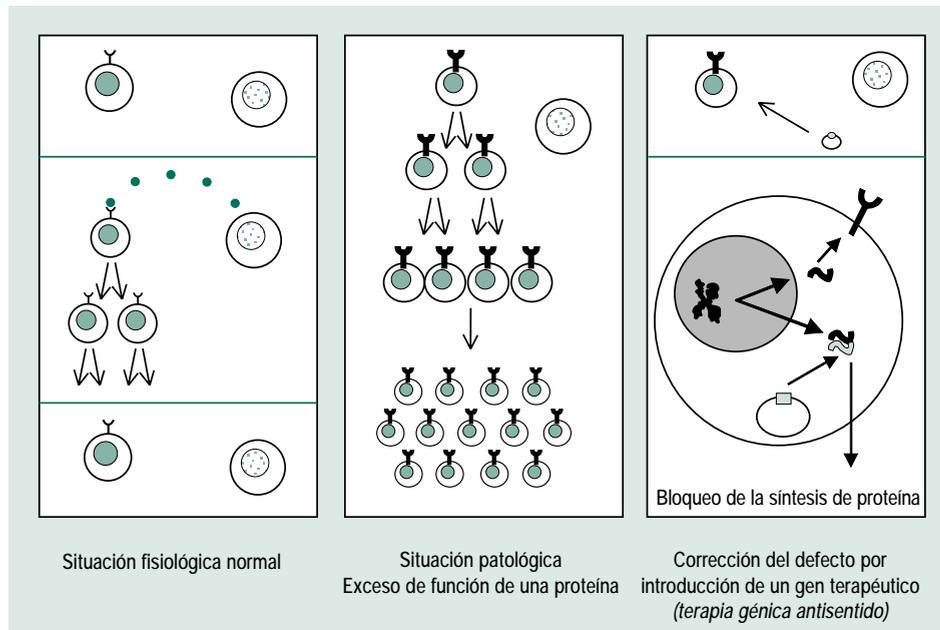


Figura 7. Corrección del exceso de función de una proteína

primera mutación y a partir de la cual se genera la neoplasia. En el segundo caso, lo que falla es la muerte de la célula. Toda célula tiene un programa de vida, y es tan malo dividirse en exceso como no morirse. El resultado es la producción de una estirpe celular inmortal. La muerte celular programada, conocida como apoptosis está también controlada por un centenar de genes; un fallo en uno de ellos puede dar lugar a la formación de un tumor.

Por último, cualquier mutación que afecte a los sistemas de reparación del ADN, hará que se incorporen más errores en el cromosoma de la célula, y a la larga afectará a las vías de transforma-

ción neoplásica citadas anteriormente. El fallo en los mecanismos de reparación del ADN genera unas células con alta capacidad de mutación que con el tiempo repercute en la distorsión del control de la división celular y de la apoptosis.

En el caso de la mutación que afecta la división celular, se puede poner por ejemplo la mutación en tres posiciones concretas de la molécula ras. El ras es un transmisor de señal que dice al núcleo celular cuando debe comenzar la división. La mutación del gen ras produce una señal errónea que indica al núcleo celular que se divida, independientemente de la necesidad de la célula

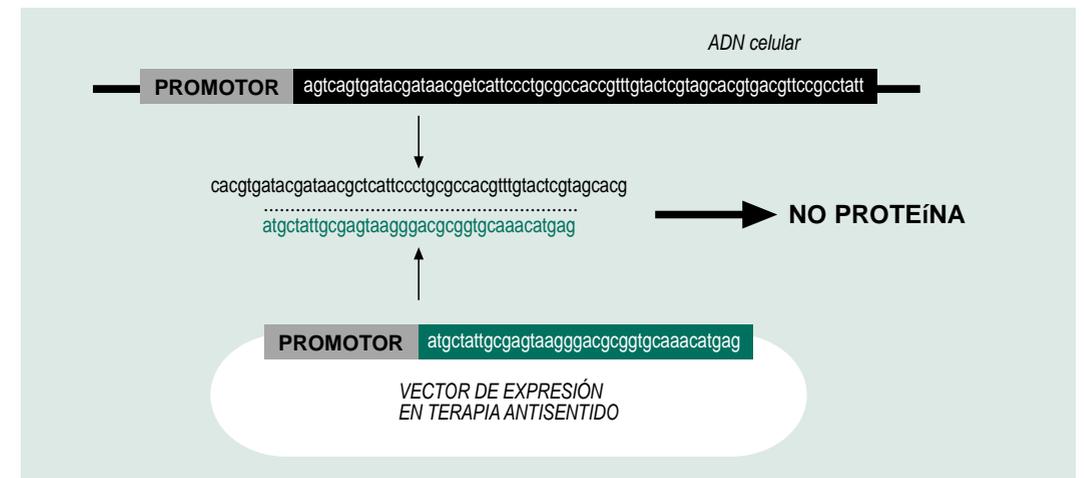


Figura 8. Terapia antisentido

la de dividirse. Es como si un interruptor se quedara atascado en la posición de encendido y siempre enviara la señal de división al núcleo (ver esquema en la figura 7). En estos casos, la terapia génica consiste en interrumpir esa señal, y para ello, una diana de actuación clara es la de evitar que el mensaje del gen mutado llegue a traducirse a proteína. Para ello, el "gen terapéutico" será una copia complementaria del mensaje mutado que produce el gen endógeno de la célula, y que hibridará con éste para neutralizarlo, o desnaturalizarlo si se utilizan ribozimas, lo que se conoce como estrategia antisentido (antisense). Desgraciadamente, estos ensayos de terapia génica sólo son efectivos con células en cultivo. En terapias *in vivo*, parece más económico hacer llegar un gen letal a unas células específicas, en este caso un grupo de células neoplásicas, para solucionar el problema. Se están actualmente evaluando varias propuestas de terapias génicas en las

que la célula cancerosa produzca sustancias tóxicas para ella misma, un aumento de la respuesta inmunológica, o inhiban el suministro de sangre a los tumores (ver Carreras y cols. Vol. 1 de esta publicación).

La fabricación de anticuerpos intracelulares que bloquean la proteína anómala o proteínas antagónicas que inhiban específicamente la interacción de una proteína mutada son también estrategias interesantes para la inhibición de un exceso de función de una proteína endógena tal y como se ilustra en la figura 9.

Los obstáculos que supone la terapia génica en estos casos son los propios de la regulación precisa de la expresión en la célula de un gen foráneo. El gen endógeno tiene un control muy preciso de su expresión. Las células deben producir la proteína en cantidad justa en el momento adecuado, lo cual

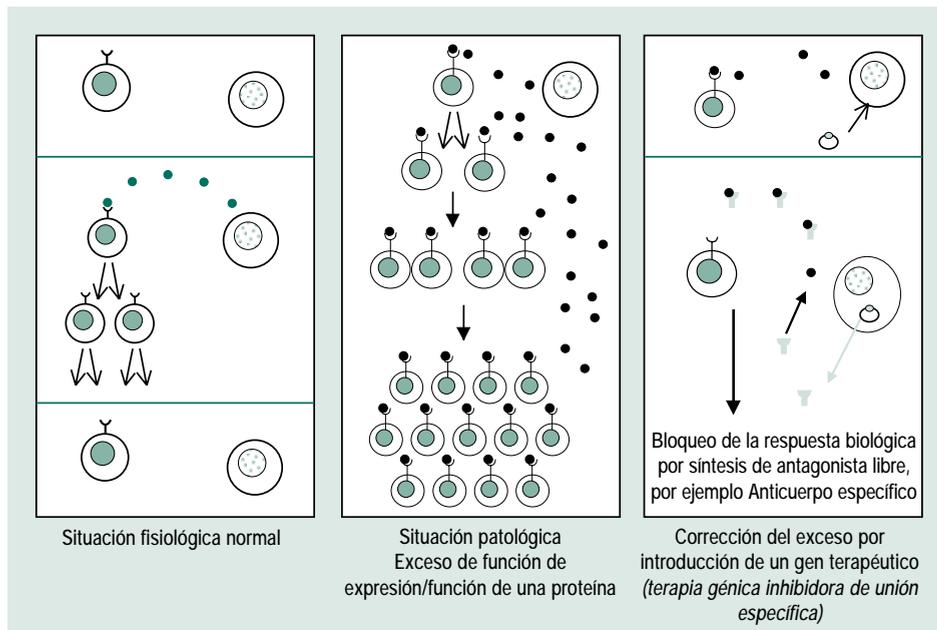


Figura 9. Terapia inhibición específica de unión ligando receptor

no es siempre fácil. Bien los genes no llegan en los pacientes a un número suficiente de células adecuadas, o funcionan mal, y a veces se opta por la actividad génica transitoria, la estimulación de sistema inmune contra células cancerosas o agentes infecciosos. Para ello, los vehículos no integrativos del tipo adenovirus, liposomas o ADN desnudo pueden ser de gran utilidad.

6. CONCLUSIÓN

La terapia génica debe considerar cada estrategia y adaptarla al tipo celular que debe ser modificado. No existe una estrategia universal para todos los tipos celulares y todas las condiciones. Es

muy importante regular la actividad precisa del gen en el contexto tisular y momento necesario. En el caso de producir moléculas nuevas desde un vector de expresión, ya sean éstas las proteínas terapéuticas o cualquier otra fabricada a partir del mismo vector, es importante evitar las defensas celulares de inactivación de proteínas extrañas y finalmente, cuando ya se entra en protocolos de terapia génica de condiciones que afectan a la especie humana, mantener siempre y estrictamente el rigor y protocolo de los ensayos clínicos.

7. BIBLIOGRAFÍA

Caplen NJ.
Cystic fibrosis gene therapy trials and tribulations.
Trends Mol. Med. 2001, 7(11):488.

Carreras MJ, Bernal C, Monterde J.
Nuevas estrategias terapéuticas en el tratamiento del cáncer. 2001.
Formación Continuada para farmacéuticos de hospital. Vol. 1: 85- 115.

Cavazzana-Calvo M, Haccein-Bey-Abina S.
Correction of genetic blood defects by gene transfer.
Curr Opin Hematol 2001; 8(6):360-7.

Chmura SJ, Gupta N, Advani SJ, Kufe DW, Weichselbaum RR.
Prospects for viral-based strategies enhancing the anti-tumor effects of ionizing radiation.
Semin Radiat Oncol. 2001; 11(4):338-45.

Chen ST, Iida A, Guo L, Friedmann T, Yee JK.
Generation of packaging cell lines for pseudotyped retroviral vectors of the G protein of vesicular stomatitis virus by using a modified tetracycline inducible system.
Proc Natl Acad Sci U S A. 1996; Sep 17;93(19):10057-62

Friedman and Roblin.
Gene therapy for human genetic disease.
Science, 1972; 175: 949-955.

Hoogerbrugge et al.
Bone marrow gene transfer in three patients with adenosine deaminase deficiency.
Gene Therapy, 1996; 3(2): 179-183.
EMBO J 1985; Feb 4(2):437-43.

Roth JA, et al.
Gene therapy approaches for the management of non-small cell lung cancer.
Semin Oncol 2001; 28 (4 suppl 14):50-6.

Schilz AJ, Kuhlcke K, Fauser AA, Eckert HG.
Optimization of retroviral vector generation for clinical application.
J Gene Med 2001; 3(5):427-36.

Yokoyama T, Chancellor MB, Yoshimura N, Huard J, Kumon H.
Gene therapy and tissue engineering for urologic dysfunction: status and prospects.
Mol Urol 2001; 5(2).67-70.

CUESTIONARIO: Sólo una respuesta es válida

PREGUNTAS:

- 1- ¿De todas estas características, cual es la más importante que debe tener un prospecto?
- Que sea muy extenso.
 - Que sea muy complejo.
 - Que sea legible.
 - Que tenga preguntas y respuestas.
 - Que tenga un carácter muy científico.
- 2- ¿Dentro de la estructura de un prospecto, cual es el epígrafe que no va dirigido al paciente?
- El apartado de reacciones adversas.
 - Ninguno.
 - El apartado de posología.
 - El apartado de instrucciones para el profesional sanitario.
 - El apartado de conservación.
- 3- El prospecto de una especialidad farmacéutica:
- Es sólo obligatorio para especialidades muy conocidas.
 - Acompaña siempre de forma obligatoria a todas las especialidades.
 - El laboratorio es quien determina qué especialidades deben tener prospecto y cuáles no.
 - Es de tipo obligatorio sólo para especialidades que se dispensen en Oficinas de farmacia.
 - La Administración determina qué especialidades tienen que llevar prospecto y cuáles no.
- 4- ¿Desde cuando se incluye en España un prospecto en el embalaje de las especialidades farmacéuticas?
- 1982.
 - 1989.
 - 1990.
 - 1992.
 - Otra fecha.
- 5- Cada especialidad farmacéutica debe estar identificada obligatoriamente por un número o números. ¿Qué tipo de registro exige que en el embalaje exterior figuren dos números de identificación?
- El procedimiento Centralizado.
 - El procedimiento nacional en especialidades con receta médica.
 - El procedimiento nacional en especialidades publicitarias.
 - El procedimiento nacional en especialidades genéricas.
 - El procedimiento nacional en los envases clínicos.
- 6- El embalaje exterior presente actualmente en las especialidades farmacéuticas en España, ¿sigue la normativa comunitaria?, ¿en qué casos?
- En todos.
 - En los nuevos registros.
 - En las especialidades genéricas.
 - En las especialidades de uso hospitalario.
 - En las especialidades publicitarias.
- 7- ¿Qué siglas tienen que llevar las especialidades farmacéuticas publicitarias en el embalaje exterior?:
- EFG.
 - ECM.
 - EFF.
 - TLD.
 - Ninguna.
- 8- ¿Los excipientes podrán expresarse solamente con el número E ?:
- En la Ficha técnica
 - En el Prospecto.
 - En el embalaje exterior.
 - En el acondicionamiento primario.
 - La c) y d) son correctas.
- 9- La indicación de uso tiene que aparecer en el embalaje exterior de:
- Todos los medicamentos.
 - Las especialidades de especial control médico.
 - Las especialidades genéricas.
 - Las especialidades farmacéuticas publicitarias.
 - Ninguna.
- 10- ¿Qué tipo de liberación puede considerarse idéntica a la retardada?
- Activada.
 - Repetida.
 - Prolongada.
 - Diferida.
 - Sostenida.
- 11- ¿Para cuáles comprimidos matriciales se utilizan principalmente los derivados de celulosa?
- Inertes.
 - De hinchamiento controlado.
 - De hinchamiento ilimitado.
 - Lipídicos.
 - Multicapa.
- 12- El recubrimiento de una forma farmacéutica no permite uno de los siguientes objetivos. ¿Cuál?
- Enmascarar un olor o sabor desagradable.
 - Mejorar la estabilidad del fármaco.
 - Proteger el organismo de la acción del fármaco.
 - Disminuir la inestabilidad del fármaco.
 - Incrementar la eficacia del fármaco.
- 13- ¿Cuál es el mecanismo de liberación de principio activo en un comprimido "Oros"?
- Diferencia de pH.
 - Gradiente osmótico.
 - Solubilidad.
 - Concentración.
 - Carga iónica.
- 14- ¿Cuál de los siguientes factores de formulación no afecta a la liberación de principio activo en un sistema basado en resinas intercambiadoras de iones?
- Tamaño de partícula.
 - pKa del grupo funcional implicado en el intercambio iónico.
 - Grado de reticulación elevado.
 - Concentración de principio activo.
 - Grado de reticulación bajo.
- 15- ¿Cuál de las siguientes ventajas, de un sistema transdérmico no es verdadera?
- Reducir el efecto de primer paso.
 - Disminuir la toxicidad del fármaco.
 - Mejorar el cumplimiento de la posología
 - Cómoda administración.
 - Utilizable para fármacos de vida media muy corta.
- 16- ¿Cuál de las siguientes matrices no corresponde a un parche transdérmico matricial?
- Hidrogel.
 - Membrana polimérica impregnada.
 - Lipídica.
 - Adhesiva.
 - Elastomérica.
- 17- ¿Cuál de las siguientes características no corresponde a un polímero utilizable en un implante sólido subcutáneo?
- Compatible con las mucosas.
 - Posible liberación del fármaco acorde con las exigencias farmacocinéticas del mismo.
 - Incremento de la acción del fármaco.
 - Compatibilidad con los tejidos receptores.
 - Resistencia mecánica adecuada.
- 18- ¿Cuál de las siguientes especificaciones de tamaño es correcta?
- Cápsulas de 1 a 5 mm.
 - Microcápsulas de 1 a 5 micrometros.
 - Microesferas de 10 micrometros a 10 mm.
 - Nanocápsulas de 10 a 1000 nanometros.
 - Gránulos de 10 a 20 mm.
- 19- ¿Cuál es la prioridad, según los usuarios de Internet sanitario, a la hora de consultar información biomédica?
- Sitios médicos profesionales.
 - Bibliotecas médicas.
 - Publicaciones periódicas.
 - Bases de datos de medicina como Medline.
 - Catálogos de bibliotecas.
- 20- ¿Qué recursos de interés son los más consultados?
- Grupos de soporte.
 - Descripción de enfermedades.
 - Ensayos clínicos.
 - Literatura biomédica.
 - Fóruns profesionales.
- 21- ¿Qué requisito es imprescindible para llevar a cabo un proceso de obtención de información?
- Conocer en profundidad las necesidades informativas y requisitos respecto a nuestra demanda.
 - Disponer de una gran cantidad de fuentes de información de calidad.
 - Conocer las fuentes de información en profundidad.
 - Tener una estrategia de interrogación preparada para hacer la búsqueda.
 - Disponer de acceso a Internet.
- 22- ¿Qué es una estrategia de búsqueda?
- El número de documentos recuperados tras consultar una fuente de Información en Internet.
 - El número de pasos que se deben llevar a cabo para obtener un resultado óptimo en una sesión de búsqueda.
 - Conjunto de interrogaciones que se Introducen en una base de datos para obtener un resultado relevante.
 - Conjunto de acciones encaminadas a concebir la obtención de un conjunto de información de calidad de acuerdo a unos requerimientos específicos.
 - Conjunto de pasos que deben seguirse en la consulta de una base de datos.
- 23- ¿Qué es una base de datos?
- Recurso de Internet que tienen como misión agrupar en un solo sitio todos lo servicios y recursos interesantes de cara a un colectivo de usuarios.

- b) Conjunto de información organizada en registros que definen una realidad con atributos y valores.
- c) Servicio de Información o parametrizable por el usuario que permite la búsqueda de contenidos.
- d) Conjunto de reglas que tiene como objetivo hacer más respetuoso el intercambio de información por Internet.
- e) Conjunto de información ligeramente estructurada que permite el acceso a documentos de una temática concreta.

24. Si se quisiera evaluar la calidad en la provisión de servicios médicos y atención al paciente, ¿qué instrumento de evaluación se utilizaría?

- a) Hon Code.
- b) Mitretek.
- c) Discern.
- d) Sello Activo.
- e) Ninguno de los anteriores.

25. La relación correcta entre DNA, gen y cromosoma es:

- a) Los cromosomas de la célula residen en los genes formados por DNA.
- b) Los genes de la célula residen en el DNA formado por cromosomas.
- c) El DNA de la célula reside en los genes formados por cromosomas.
- d) Los genes de la célula residen en los cromosomas formados por DNA.
- e) El DNA de la célula reside en los cromosomas formados por genes.

26. La diferencia entre la terapia génica in vivo y ex vivo es:

- a) La terapia génica in vivo contempla la manipulación genética de células vivas y la terapia génica ex vivo lo hace en células apoptóticas.
- b) La terapia génica in vivo contempla la manipulación genética de células en división y la terapia génica ex vivo lo hace en células quiescentes.
- c) La terapia génica in vivo contempla la manipulación genética de células dentro del organismo y la terapia génica ex vivo lo hace en células aisladas del organismo.
- d) La terapia génica in vivo contempla la manipulación genética de organismos y la terapia génica ex vivo lo hace sólo en células.
- e) La terapia génica in vivo contempla la manipulación genética de células somáticas y la

terapia génica ex vivo lo hace sólo en células germinales

27. Un gen consiste en una región promotora y un número variable de exones e intrones. La función del promotor es:

- a) Controlar que el gen se exprese sólo en los tejidos donde sea necesaria la proteína codificada por el gen.
- b) Limitar el inicio de la secuencia de un gen.
- c) Controlar que el gen se exprese sólo en el momento preciso cuando sea necesaria la proteína codificada por el gen.
- d) Regular la frecuencia de posibles mutaciones en un mismo gen.
- e) Controlar que el gen se exprese sólo en el momento preciso y sólo en los tejidos donde sea necesaria la proteína codificada por el gen.

28. Un gen consiste en una región promotora y un número variable de exones e intrones. Cuando el gen se transcribe a mRNA sucede que:

- a) Las regiones codificantes (exones) se unen entre sí, en el orden establecido en el gen, para generar el mRNA y traducirlo por acción de los ribosomas en proteína.
- b) Las regiones no codificantes (intrones) se unen entre sí, en el orden establecido en el gen, para generar el mRNA y traducirlo por acción de los ribosomas en proteína.
- c) Las regiones codificantes (exones) se unen entre sí, aleatoriamente, para generar el mRNA y traducirlo por acción de los ribosomas en proteína.
- d) Las regiones no codificantes (intrones) se unen entre sí, aleatoriamente, para generar el mRNA y traducirlo por acción de los ribosomas en proteína.
- e) Las regiones codificantes (exones) se unen con las regiones no codificantes (intrones) para generar el mRNA y traducirlo por acción de los ribosomas en proteína.

29. Una mutación en la región codificante (exón) de un gen puede tener los siguientes efectos:

- a) El gen desaparece.
- b) La proteína se sintetiza pero su función es nula, escasa, normal o excesiva.
- c) El mRNA deja de transcribirse.
- d) El mRNA se transcribe otra vez en DNA.
- e) La proteína siempre deja de sintetizarse.

30. Una mutación en la región promotora de un gen puede tener los siguientes efectos:

- a) Se altera la disyunción de los cromosomas durante la división celular.
- b) Se altera la regulación temporal y tisular de la expresión del gen.
- c) Se transcriben todos los genes de la célula a la vez.
- d) Se inhibe la transcripción de todos los genes de la célula.
- e) Se sintetiza la proteína en ausencia del mRNA.

31. Para generar un vector de transferencia con utilidad en terapia génica, éste deberá incluir los siguientes elementos básicos de secuencia.

- a) Región promotora, gen terapéutico, secuencias de retrovirus infecciosos.
- b) Región promotora, gen terapéutico, secuencias de adenovirus y virus derivados de adenovirus.
- c) Región promotora, gen terapéutico, secuencias derivadas de plásmidos.
- d) Región promotora, gen terapéutico, partículas liposomales.
- e) Región promotora, gen terapéutico, secuencias reguladoras de la replicación y selección del vector en el laboratorio.

32. Las enfermedades cuyo tratamiento es abordable con estrategias de terapia génica incluyen:

- a) Sólo enfermedades monogénicas de carácter hereditario.
- b) Sólo enfermedades cuya causa reside en un defecto genético descrito o en las que se puede activar la muerte selectiva de las células afectadas.
- c) Sólo enfermedades cuya causa genética es con-

- firmable en sujetos portadores asintomáticos
- d) Sólo enfermedades poligénicas causadas por virus.
- e) Sólo enfermedades no tratables con terapias convencionales.

33. La terapia génica antisentido consiste en:

- a) Cambiar el sentido de la transcripción de un gen.
- b) Bloquear la transcripción de un gen mutado.
- c) Prevenir la interacción específica entre dos proteínas celulares.
- d) Insertar el vector de transferencia en el cromosoma celular, y activar constitutivamente la expresión del gen terapéutico.
- e) Dirigir la síntesis de RNA complementario a un mRNA celular mutado para impedir su traducción a proteína.

34. Para lograr la expresión de un gen terapéutico en el tejido diana se deberán considerar muy cuidadosamente los siguiente aspectos.

- a) Que el vector pueda acceder e introducirse en las células diana y que el promotor del gen terapéutico sea reconocible por los factores de transcripción específicos de esas células
- b) Que el vector se cultive con facilidad en líneas celulares en el laboratorio y los costes de su producción sean viables.
- c) Que el vector pueda acceder e introducirse en las células diana y que el gen terapéutico se pueda insertar en el cromosoma y sustituir al gen mutado.
- d) Que el vector no sea demasiado grande.
- e) Que el vector se pueda replicar en el interior de la célula.

Hoja de respuestas del Módulo 3

Nombre y apellidos: _____

Nº D.N.I.: _____

Domicilio completo: _____

C.P.: _____ Población: _____

Provincia: _____ Teléfono/Fax contacto _____

Puntuación obtenida respecto al grupo

Puntuación general

35. Los problemas en el diseño de estrategias en terapia génica incluyen:

- a) La accesibilidad del tejido u órgano defectuoso en el paciente.
- b) Especificidad de infección de las células dianas.
- c) Obtención de los niveles deseados del producto del gen terapéutico en el interior de la célula.
- d) Posibilidad de recombinación del vector con virus endógenos latentes en las células del huésped.
- e) Todos los anteriores.

36. La mayoría de la investigación y ensayos clínicos de terapia génica se han centrado en:

- a) Gripe y otras enfermedades infecciosas de importancia socio-sanitaria.
- b) Enfermedades raras intratables por otros métodos.
- c) Enfermedades monogénicas hereditarias y poligénicas como cáncer y SIDA.
- d) Reproducción asistida.
- e) Medicina preventiva.

Preguntas del Módulo 3

1 2 3 4 5 6 7 8

9 10 11 12 13 14 15 16

17 18 19 20 21 22 23 24

25 26 27 28 29 30 31 32

33 34 35 36