Avances en las aplicaciones terapéuticas de la edición genética

Salvar las actuales limitaciones de la tecnología CRISPR/Cas9 es prioritario para poder aplicarla de manera segura en las enfermedades genéticas, área donde ofrece una norme promesa.

Las tecnologías de edición genética actualmente en desarrollo ofrecen un enorme potencial en el tratamiento de las enfermedades genéticas en las que una única mutación es la responsable, como ocurre en la distrofia muscular de Duchenne, la insuficiencia cardíaca congénita, la deficiencia en alfa-1 antitripsina hepática o la fibrosis quística, entre otras. A pesar de los significativos avances en las técnicas basadas en CRISPR/Cas9, su uso como terapia requiere la entrega simultánea de un ARN guía, la proteína Cas9 y componentes adicionales, difíciles de clonar en un único vector convencional, lo que impone la necesidad de usar virus adenoasociados (AAV) para un direccionamiento eficaz. La creación de roturas de doble cadena empleada en el proceso de reparación del gen defectuoso hace que esta técnica dependa de los mecanismos de reparación genética propios de la célula, particularmente la recombinación homóloga, si bien en algunos casos la no homóloga, basada en la unión de los extremos cortados, es también permisible. Estos mecanismos no se encuentran plenamente operativos en células quiescentes, esto es, las que no se dividen, las cuales componen la mayoría de los tejidos. Esto resulta en una baja eficiencia y en la permanencia de la mutación deletérea en una significativa proporción del tejido, limitando así la eficacia de la terapia. Por otro lado, la inmunidad pre-existente o nueva frente a los AAVs utilizados puede resultar en la neutralización de la terapia. Como consecuencia, actualmente la técnica CRISPS/Cas9 puede ser usada una única vez, a fin de evitar la amplificación de la respuesta inmunitaria adaptativa. El uso de una única dosis puede, además, ser insuficiente para tratar grandes tejidos, como el hueso o el músculo. La expresión continuada de Cas9 puede también causar roturas acumulativas de doble cadena en otros lugares del genoma, lo que resulta en inserciones y deleciones (indels). Éstas suponen un potencial riesgo, tanto por su capacidad de inactivar genes como de activar oncogenes que pueden conducir a la transformación maligna de la célula. Aunque originalmente se creía que las alteraciones genéticas inducidas por CRISPR/Cas9 estaban circunscritas a la vecindad inmediata del lugar diana, técnicas de genotipado por PCR de largo rango han demostrado que las deleciones de ADN pueden extenderse a lo largo de muchas kilobases, llegándose a registrar incluso entrecruzamientos en localizaciones distales. El riesgo de transformación oncogénica puede ser particularmente elevado con el uso de AAVs administrados por vía intravenosa, ya que ello facilita el acceso a múltiples tejidos, muchos de los cuales se encuentran mitóticamente activos, tales como la médula ósea, el hígado o el intestino, circunstancia que aumenta la vulnerabilidad de las células. Además, las roturas de doble cadena inducidas por CRISPR/Cas9 activan la proteína p53, una de cuyas funciones es inducir la muerte celular por apoptosis. Aunque los enfoques dirigidos a inactivar p53 mejoran la eficiencia de la técnica, la reparación de ADN dependiente de p53 se ve comprometida, lo que aumenta la inestabilidad genómica.

Las inserciones y deleciones generadas por la tecnología CRISPR/Cas9 suponen un potencial riesgo

Edición genética in vitro

A pesar de las limitaciones mencionadas, existen enfoques en los que la técnica CRISPR/Cas9 es aplicada in vitro en células madre de médula ósea extraídas del paciente. Después de ser tratadas, las células son expandidas y devueltas al paciente, ofreciendo posibilidades de tratamiento en enfermedades hematológicas como la beta talasemia o la anemia falciforme. En esta última patología la FDA ya ha autorizado el inicio de un ensayo clínico con CTX001, una modalidad de CRISPR/Cas9 que reemplaza el gen deficiente con el de la hemoglobina fetal. Los datos preliminares indican que CTX001 consigue un nivel de edición superior al 90% en el lugar diana, con un incremento clínicamente relevante de los niveles de hemoglobina. Se espera que un ensayo de fase I/II con el mismo producto tenga su inicio en breve en Europa.

¡12 meses llenos de ilusión!

En **Carburos Metálicos** llevamos años trabajando a través del arte, la ciencia y la creatividad para que los hospitales sean más infantiles, llenando de color las ciudades hospitalarias.

Cada mes, nuestros valores llevan la ilusión a los niños y niñas hospitalizados, para mejorar su calidad de vida, la de sus familias y el personal sanitario.

Ilusiónate con nosotros y descubre los valores que nos unen.

Gracias por ilusionarte
nosmuevelailusion.com

tell me more
carburosmedica.com
Síguenos en redes sociales

CARBUROS MEDICA
Grupo Air Products

CRISPR/Cas9 en las miopatías

En los últimos años la tecnología CRISPR/Cas9 ha sido intensamente aplicada en modelos animales de distrofia muscular de Duchenne (DMD), una enfermedad que en humanos se asocia a una elevada morbimortalidad. Al igual que muchas otras distrofias musculares, la DMD es causada por mutaciones individuales en un único gen, en este caso en el de la distrofina, lo que facilita el restablecimiento de la función génica mediante un simple reemplazamiento. Debido al enorme tamaño del gen de la distrofina, compuesto por más de 11.000 pares de bases sólo en la región codificante, su introducción en un vector viral para un reemplazamiento completo del gen por métodos tradicionales no resulta viable. Por ello, la corrección de la mutación individual con CRISPR/Cas9 ofrece una buena alternativa. Los experimentos iniciales en ratones MDX, un modelo de DMD, han demostrado que los cigotos tratados con CRISPR/Cas9 y posteriormente implantados en hembras presentan un genotipo normal a los 10 días del nacimiento y una fuerza muscular superior a los 30 días, en comparación con los animales portadores de la mutación. El uso de AAVs ha permitido la entrega de CRISPR/Cas9 y la corrección de las mutaciones tras el nacimiento, con el consiguiente rescate de la función muscular. El éxito de estas intervenciones radica, al menos en parte, en la presencia de cientos de núcleos celulares en cada célula muscular, en las que basta la corrección en unos pocos núcleos para proteger la totalidad de la fibra. Sin embargo, la baja frecuencia de reparación del ADN por recombinación homóloga en células que se dividen poco, como las musculares y las cardíacas, reduce la eficiencia de la edición genética. Es por ello que actualmente está siendo explorada como alternativa la inducción de la reparación del ADN por métodos no homólogos, tales como la unión de los extremos seccionados del ADN, una modalidad que no requiere una secuencia patrón y es más eficiente que la reparación por recombinación homóloga. Aunque la reparación no homóloga carece de la capacidad de reemplazar la región defectuosa por la normal, sí puede dirigir la remoción de partes de la primera. En el caso de la DMD este enfoque puede ser, teóricamente, tan eficaz como el reemplazamiento de la mutación, debido a que la distrofina presenta una estructura redundante y puede funcionar parcialmente en ausencia de algunos de sus dominios. Así lo demuestra un reciente ensayo clínico con otra técnica genética, en el que el uso de un vector transportador de una microdistrofina, o versión reducida de la proteína, reduce en un pequeño número de pacientes los niveles de creatina quinasa, una proteína asociada a la DMD. La variante de CRISPR/cas9 basada en un único corte y recombinación no homóloga recapitula esta posibilidad. En lugar de escindir el exón defectuoso con un corte en cada extremo del mismo, crea una modificación que resulta en que el exón afectado sea omitido en la fase de traducción del ARN. Esta modalidad podría ser la mejor opción, ya que permite corregir entre el 60 y el 80% de las más 4.000 mutaciones asociadas a la DMD hasta ahora identificadas. El mayor desafío en la aplicación de CRISPR/Cas9 en la DMD es la necesidad de administración sistémica, tanto para la restauración de la movilidad como para la prevención del fallo cardíaco. Aunque el transporte de la terapia por vía circulatoria no presenta problemas en animales de experimentación, se desconoce el impacto que puede tener en humanos, en términos de potencial toxicidad y de eficiencia de entrega. ✚

La permanencia de la mutación deletérea en una significativa proporción del tejido limita la eficacia de la tecnología CRISPR/Cas9

FACTORES QUE LIMITAN EL USO CLÍNICO DE LA TECNOLOGÍA CRISPR/CAS9

Inmunidad	Generación de anticuerpos frente al vector adenoasociado.
Imprecisión en la entrega	Reducción de la eficacia por dilución en tipos celulares menos relevantes.
Quiescencia celular	Reducción de la eficacia por ausencia de mitosis en una proporción de las células del organismo.
Daño al ADN	Mayor riesgo de aberraciones genéticas por modificación de ADN fuera de la diana.