

Simposio

Posibles aplicaciones de la clonación en la prevención y tratamiento de las enfermedades genéticas

AA Dra. María Isabel Quiroga de Michelena

ENFERMEDADES GENÉTICAS

Los enormes avances en genética en los últimos años, muchos de ellos producto de los descubrimientos del proyecto Genoma Humano, parecen indicar que hay un componente genético en casi todas las enfermedades, resulta entonces difícil y algo arbitrario tratar de precisar los límites de lo que se considera una enfermedad genética.

Por una parte, tenemos el gran grupo de las llamadas enfermedades multifactoriales en las que genes y ambiente interactúan en la determinación del fenotipo, y que incluyen muchas de las dolencias comunes del adulto – obesidad, hipertensión, trastornos mentales y otras – las que tienen una evidente influencia genética y por ende una tendencia familiar a su presentación, sin que sean claramente hereditarias.

Por otra parte, están las enfermedades que podríamos llamar "puramente" genéticas, en las que la influencia del ambiente es mínima o nula, que son a las que nos referiremos en este artículo; éstas incluyen: (1) las alteraciones cromosómicas- que suman más de 1000- en las que la anomalía fenotípica es causada por un defecto visible en el número o estructura de los cromosomas, y (2) las enfermedades llamadas mendelianas- de las que se conocen más de 6000- causadas por mutaciones en la cadena de ADN que forma los genes y que se transmiten en las familias siguiendo las leyes de Mendel. Aunque todas las células de una persona tienen idénticos genes, unos 40 mil según los últimos estimados, cada célula está especializada en una determinada función y por eso sólo algunos de los genes están activos en ella. Por eso, los síntomas de la enfermedad dependen del gen mutante, de la célula en que éste se expresa y de la función del polipéptido normalmente codificado por dicho gen, cuya falta o alteración es causa de trastorno genético.

Las enfermedades genéticas son individualmente raras, pero en conjunto se presentan en 3 ó 4% de la población; frecuentemente son crónicas y determinantes de discapacidad física o mental, y su carácter hereditario representa una carga adicional en la familia, no sólo desde el punto de vista médico, sino también psicológico, económico y social. Estos trastornos actualmente no son curables, ya que se requeriría un cambio en el genoma del individuo, que, en la práctica, es aún inmodificable. La excepción a esta regla está representada por un minúsculo grupo de pacientes que en algún momento han sido sometidos, con poco éxito aún, al tratamiento experimental conocido como *terapia génica*, consistente en la inserción en algunas de sus células de ADN foráneo, conteniendo el gen que se requiere reemplazar o modificar.

Vemos pues, que los recursos que la medicina puede ofrecer a las personas que sufren enfermedades genéticas son actualmente muy limitados. Es por eso que la prevención, tendiente a minimizar la probabilidad de concebir un embrión afectado, juega un papel muy importante en el manejo de las familias en las que existe una anomalía de origen genético.

APLICACIONES DE LA CLONACIÓN

Dentro de este panorama, el advenimiento de la técnica de transferencia nuclear y reprogramación de células adultas, dada a conocer a raíz de la clonación de la oveja Dolly, estimuló la búsqueda de posibles aplicaciones de esta tecnología para la prevención y manejo de las enfermedades genéticas.

En la práctica, como se sabe, los intentos de clonar células humanas que progresen a través de sucesivas divisiones en forma sostenida y reproducible han sido infructuosos (1); sin embargo, las dificultades técnicas podrían ser superables (2-3) y permitir en el futuro la creación de blastocistos para ser utilizados tanto con fines

reproductivos como para la obtención de células troncales. Sin tomar en cuenta el justificado e importante debate sobre el aspecto ético de la utilización de células así obtenidas, podríamos avizorar las siguientes aplicaciones dentro del campo de la genética médica:

La clonación reproductiva, utilizada como técnica de reproducción asistida para la prevención de enfermedades genéticas, podría ser una alternativa a la donación de gametos en parejas en las que uno de los cónyuges transmite una alteración genética. En los casos de anomalías cromosómicas o de enfermedades de herencia dominante o ligadas a X, la clonación del cónyuge sano y no portador, garantizaría un hijo o hija sin la enfermedad. También sería una alternativa en aquellas enfermedades genéticas de herencia recesiva que se dan por la "combinación" de los genes de ambos padres, y en las que actualmente se utiliza a veces un gameto donado con la finalidad de evitar la ocurrencia o recurrencia de la enfermedad para que ambos sean portadores sanos. La clonación de uno u otro miembro de la pareja produciría prole sana, aunque portadora al igual que el padre del cual provino.

Indudablemente, los numerosos embriones muertos o malformados que quedan en el camino en cualquier experimento de clonación indican que ésta continúa siendo una técnica ineficiente para la obtención de embriones, y por ahora extremadamente riesgosa como aplicación reproductiva (1).

La clonación con fines terapéuticos podría ser una fuente continua de células madre o troncales. Como se sabe, hay diferentes tipos de células madre: las que se encuentran en el cordón umbilical y en varios tejidos adultos, especialmente en la médula ósea, tienen una capacidad limitada de diferenciación, son *multipotentes*. En cambio, las que provienen de los embriones no implantados, o de la masa interna de un blastocisto obtenido por clonación, son *pluripotentes*, es decir, capaces de formar prácticamente cualquier tejido y tienen además una serie de ventajas prácticas para uso terapéutico.

La meta de la clonación terapéutica es, entonces, la obtención de células troncales pluripotentes; el proceso para lograrlo, por ahora, pasa por la formación de un blastocisto, a partir de lo que se llama ahora un "óvulo activado" – para diferenciarlo del fertilizado-, que será luego disgregado para extracción de las células de la masa interna. Las células madre así obtenidas podrían ser empleadas para el tratamiento de la misma persona

donante del núcleo, y por tanto con idéntico ADN, o de otro paciente.

Desde hace algunos años diversos experimentos con animales (1,4-5) vienen mostrando el inmenso abanico de potenciales aplicaciones de las células troncales en medicina humana. Nos limitaremos a una breve revisión de las que atañen a los trastornos de origen genético, haciendo énfasis en que todas las terapias con células madre son aún experimentales, la gran mayoría de los experimentos han sido hechos en animales, su uso en humanos ha sido muy limitado y los resultados obtenidos no son concluyentes aún.

En la mayoría de las enfermedades genéticas, los daños primarios se producen por falta de una determinada proteína debido a la mutación del gen que la codifica. Para remediar esta deficiencia en forma permanente hay dos formas de proceder, una es insertar células madre donadas, con la información correcta, en los tejidos que lo requieren; la otra es insertar una copia normal del gen mutado, exclusivamente en las células progenitoras de aquellas en las que se requiere la expresión de dicho gen (6). En el primer caso se utilizan células troncales de un donante normal, las que, al tener la información genética correcta, producirán la proteína en cuestión. En el segundo, se emplean células madre del mismo enfermo, que son extraídas y modificadas genéticamente (terapia génica) para luego ser reimplantadas. Ambos tipos de aproximación han sido utilizadas en el tratamiento de niños con diversas variedades de inmunodeficiencias congénitas. En julio del 2002 se dio a conocer el caso de una familia árabe en la cual 3 de 8 hermanos presentaron un tipo de inmunodeficiencia hereditaria, debida a deficiencia de adenosina deaminasa (ADA). El primero de estos niños falleció, el segundo fue tratado con éxito utilizando células madre hematopoyéticas del cordón umbilical de un hermano sano. En el tercero, una niña, al no haber un donante compatible, se utilizaron sus propias células de cordón umbilical, modificadas mediante ingeniería genética y luego reimplantadas, las que se diferenciaron en leucocitos que luego de 15 meses continuaban produciendo adenosina deaminasa, por lo que la niña se considero curada (7).

Las células madre hematopoyéticas, provenientes de médula ósea o de sangre de cordón umbilical, utilizadas desde hace varios años para regenerar la médula ósea tras irradiación masiva en el tratamiento de neoplasias, se aplican actualmente en el tratamiento de enfermedades hematológicas hereditarias como anemia de Fanconi, beta talasemia y anemia de células falciformes (8-9).

En forma experimental, se utilizan estas mismas fuentes de células hematopoyéticas en algunas enfermedades por depósito en los lisosomas, como las mucopolisacaridosis, cuya naturaleza progresiva e irreversible, con pérdida de capacidades físicas, mentales y sensoriales, y frecuentemente muerte precoz, las hacen candidatas ideales para terapia celular. En estos casos, el aporte de enzima proveniente de las células transplantadas consigue paliar algunos síntomas y, aparentemente, retrasar o detener el progreso de la enfermedad (10).

Por otra parte, en algunas enfermedades genéticas degenerativas en que hay un daño secundario a tejidos u órganos como consecuencia del defecto primario, las células madre podrían propiciar la regeneración de tejidos destruidos o restaurar la función del órgano afectado.

La inserción de células troncales en la médula espinal se ha utilizado ya con éxito en ratas parapléjicas por sección medular, en las que se ha obtenido recuperación parcial o total del movimiento, lo que ha permitido iniciar estudios clínicos en pacientes con secuelas motoras de accidentes cerebrovasculares. En un futuro no muy lejano, éste podría ser el tratamiento de elección en diversas patologías degenerativas, como las ataxias hereditarias, la enfermedad de Alzheimer y la Corea de Huntington.

El trasplante de células troncales al músculo cardíaco parece haber facilitado, en un puñado de casos, la regeneración parcial del miocardio dañado tras un infarto (5), y estos avances vienen incentivando la investigación de una técnica similar en casos de distrofia muscular (9). Aunque la validez de estos resultados ha sido cuestionada (11), se sigue investigando en el tema de la real plasticidad de las células hematopoyéticas y otras células madre adultas, que pudieran regenerar tejidos diferentes a aquellos de donde provienen (4,12-13). La clonación terapéutica, obviaría estos problemas y proporcionaría y un suministro ilimitado de células pluripotenciales.

Entre las limitaciones de la terapia celular, debemos considerar que aún las células pluripotenciales de origen embrionario tienen una información genética que puede ser diferente a la del recipiente, y por lo tanto generar rechazo inmunológico. Otras dificultades se refieren a la forma de encausar la diferenciación al tipo celular que se busca, a la imposibilidad de acceso a ciertos tejidos, a las limitaciones de los vectores usados para terapia génica y el riesgo de activar genes indeseados, al desconocimiento de procesos celulares básicos que pueden inducir proliferación u otros efectos indeseados, a la competencia que las células transplantadas puedan tener para sobrevivir

en determinado tejido, entre otras. Se espera que el mejor conocimiento de los procesos biológicos subyacentes en la técnica de clonación, permita encontrar la manera de revertir la programación génica de células adultas (1,9) y así "desdiferenciarlas", es decir, convertirlas en células troncales pluripotentes, sin necesidad de crear un blastocisto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wilmut I.- Human cells from cloned embryos in research and therapy. *BMJ*. 2004 : 328(7437):415-6.
2. Thomson JA., Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM- Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts – *Science* 1998; 282 (5391): 1145-1147
3. Hwang WS, Ryu YJ, Park JH, Park ES, Lee EG, Koo JM, Jeon HY, Lee BC, Kang SK, Kim SJ, Ahn C, Hwang JH, Park KY, Cibelli JB, Moon SY. Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science* 2004 : 303:1669-74.
4. Bjornson C, Rietze R, Reynolds B, et al. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by neural stem cells in vivo. *Science* 1999; 283:534-7
5. Stamm C, Westphal B, Kleine H, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, Schümichen C, Nienaber CA, Freund M, Steinhoff G- Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *The Lancet* 2003; 361: 45-46
6. Chamberlain JR, Schwarze U, Wang PR, Hirata RK, Hankenson KD, Pace JM, Underwood RA, Song KM, Sussman M, Byers PH, Russell DW. Gene targeting in stem cells from individuals with osteogenesis imperfecta. *Science* 2004 : 303:1198-201.
7. Aiuti, A.; Slavin, S.; Aker, M.; Ficara, F.; Deola, S.; Mortellaro, A.; Morecki, S.; Andolfi, G.; Tabucchi, A.; Carlucci, F.; Marinello, E.; Cattaneo, F.; Vai, S.; Servida, P.; Miniero, R.; Roncarolo, M. G.; Bordignon, C. : Correction of ADA-SCID by stem cell gene therapy combined with nonmyeloablative conditioning. *Science* 2002; 296: 2410-2413.
8. Bodine DM- Gene therapy for sickle cell disease marches on. *Blood* 2003; 102: 4247