

---

**Terapia génica: ¿Qué es y para qué sirve?**  
***Gene therapy: what is it and what is its use?***

---

**M. Ruiz Castellanos, B. Sangro**

---

**RESUMEN**

La terapia génica se ha desarrollado como un método de acercamiento al tratamiento de las enfermedades humanas basado en la transferencia de material genético a las células de un individuo. Habitualmente la finalidad de esta transferencia de material genético es restablecer una función celular que estaba abolida o defectuosa, introducir una nueva función o bien interferir con una función existente. Así, las distintas estrategias de la terapia génica se basan en la combinación de tres elementos clave, el material genético a transferir, el método de transferencia y el tipo celular que incorporará dicho material genético. Inicialmente la atención se centró en el tratamiento de las enfermedades hereditarias monogénicas, pero posteriormente la mayor parte de los ensayos clínicos (más de cuatrocientos) han abordado el tratamiento del cáncer. En China se ha aprobado un producto genético para su comercialización: un *adenovirus* que transfiere la versión correcta del gen supresor de tumores p53. Y a finales de los 90, un grupo de niños con inmunodeficiencia combinada severa fue exitosamente tratado mediante la transferencia *ex vivo* a células de su médula ósea de la versión correcta del gen alterado, aunque algunos de estos niños han desarrollado más adelante síndromes linfoproliferativos por la activación de un oncogén en las células corregidas. La terapia génica humana es factible y puede ser útil, pero las herramientas necesitan ser perfeccionadas para que pueda llegar a formar parte del arsenal terapéutico habitual.

**Palabras clave.** Terapia génica. Enfermedades genéticas. Cáncer. Transferencia génica.

**ABSTRACT**

Gene therapy has developed as a method of approach to the treatment of human diseases based on the transfer of genetic material to the cells of an individual. Normally, the aim of this transfer of genetic material is to re-establish a cellular function that has been abolished or is defective, to introduce a new function or to interfere with an existing function. Thus, the different gene therapy strategies are based on the combination of three key elements: the genetic material to be transferred, the method of transfer and the cellular type that will incorporate this genetic material. Attention was initially centred on the treatment of monogenic hereditary diseases, but subsequently the majority of clinical trials (over four hundred) have concerned the treatment of cancer. In China a genetic product has been approved for commercialisation: an *adenovirus* that transfers the correct version of the tumour suppressor gene p53. And, in the late 1990s, a group of children with severe combined immunodeficiency were successfully treated through the *ex vivo* transfer of the correct version of the altered gene to their bone marrow, although some of these children later developed lymphoproliferative syndromes due to the activation of an oncogene in the corrected cells. Human gene therapy is feasible and can be useful, but the tools need improving for it to become part of the therapeutic arsenal.

**Key words.** Gene therapy. Genetic diseases. Cancer. Gene transfer.

*An. Sist. Sanit. Navar. 2005; 28 (1): 17-27*

---

Unidad de Hepatología. Clínica Universitaria de Navarra

## INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad la humanidad ha buscado distintas formas de combatir la enfermedad. La terapia génica se ha desarrollado como un método de acercamiento al tratamiento de las enfermedades humanas basado en la transferencia de material genético a las células de un individuo. Habitualmente la finalidad de esta transferencia de material genético es restablecer una función celular que estaba abolida o defectuosa, introducir una nueva función o bien interferir con una función existente. La única modalidad de terapia génica en desarrollo es la dirigida a células somáticas, no germinales, lo que asegura que la transferencia sólo afecte al individuo en tratamiento y no a su descendencia. Las distintas estrategias de la terapia génica se basan en la combinación de tres elementos clave, el material genético a transferir, el método de transferencia y el tipo celular que incorporará dicho material genético.

Tras el descubrimiento de la estructura del DNA por Watson y Crick, en los años 70 se desarrolló la tecnología del DNA recombinante, que dio lugar a unos conocimientos básicos y unas herramientas que permitían transferir genes al interior de las células. Inicialmente esta tecnología fue empleada en el campo de las ciencias básicas para investigar funciones biológicas, tanto *in vivo* como *in vitro*, pero pronto se vio que la transferencia génica tenía un gran potencial en el tratamiento de enfermedades humanas. En 1990, la terapia génica fue usada por primera vez con intención terapéutica en un paciente que padecía una inmunodeficiencia severa por un déficit de adenosina deaminasa. El error genético de sus linfocitos se corrigió *ex vivo* por transferencia génica y estos linfocitos ya corregidos se le reinfundieron<sup>1</sup>. A partir de este momento la terapia génica presentó un enorme desarrollo durante la década de los 90, con más de 400 ensayos clínicos en todo el mundo. Aunque inicialmente la atención se centró en el tratamiento de las enfermedades hereditarias monogénicas, posteriormente la mayor parte de los ensayos clínicos de terapia génica se enfocaron al tratamiento del cáncer. La trágica muerte de un joven de 18 años que participaba en uno de estos ensayos clínicos supuso un duro golpe que generó alarma en todo el mundo. A finales de los 90 se produjo el primer éxito terapéutico: un grupo de niños con inmunodeficiencia combinada severa (causada por la mutación en el gen que codifica la cadena gamma común), fueron tratados en Francia mediante la transferencia *ex vivo* a células de su médula ósea de la versión correcta del gen alterado. Todos los pacientes mejoraron su capacidad inmune, lo que les permitió vivir en un ambiente normal<sup>2</sup>. Poco después se observó que el éxito no había sido completo puesto que dos de estos niños desarrollaron leucemia aguda por la activación de un oncogén debido a la inserción aleatoria del material genético terapéutico en el genoma de las células corregidas<sup>3</sup>. Pero se había dado un paso definitivo: la terapia génica humana es factible y puede ser útil.

## ENFERMEDADES MONOGÉNICAS

Existen múltiples enfermedades hereditarias que son resultado de la mutación de un único gen. Aunque de forma individual se consideran rarezas, en conjunto constituyen una parte considerable de las enfermedades crónicas. Este grupo de enfermedades comprende

trastornos de muy diversa índole, en los que un gen defectuoso determina que no se sintetice una proteína específica (como en la hemofilia o en la hipercolesterolemia familiar), o bien que se elabore una proteína anormal (como en el déficit de  $\alpha$ 1-antitripsina). En ambas situaciones, la ausencia de la proteína correcta puede ocasionar muy diversas manifestaciones, según la función estructural o enzimática que ejerza dicha proteína o la interferencia que la proteína anormal produzca en el funcionamiento tisular. En general se trata de enfermedades en las que la farmacoterapia convencional resulta poco eficaz, por lo que se buscan otras alternativas como la terapia génica. Para conseguir que ésta sea efectiva hay que superar varias barreras: los genes deben ser transferidos selectivamente a aquellos tejidos implicados, debe existir un adecuado nivel de expresión génica y esta expresión debe ser regulada fisiológicamente<sup>4</sup>.

### ENFERMEDADES MULTIGÉNICAS

En enfermedades más comunes como son la aterosclerosis o la diabetes están implicadas varias alteraciones genéticas, de tal forma que la introducción de genes específicos podría revertir o retardar el proceso de la enfermedad actuando a nivel celular. Por ejemplo, en la reestenosis tras la angioplastia, la transferencia de genes que consigan reducir el proceso proliferativo y trombótico dentro de las células endoteliales de los vasos tratados podría prevenir su reoclusión<sup>5</sup>.

En la actualidad el cáncer puede ser considerado como el resultado de un proceso secuencial dirigido por mutaciones en genes celulares, tanto heredadas como adquiridas, que consiguen que se seleccione un grupo de células con una gran capacidad de proliferación. La mayor parte de estas mutaciones son somáticas y afectan a oncogenes, protooncogenes, genes supresores y genes reparadores de DNA. Siendo así, la idea de poder introducir dentro estas células genes que puedan alterar o inhibir su fenotipo maligno resulta muy atractiva, aunque tiene múltiples limitaciones en el momento actual<sup>6</sup>. En primer lugar, en algunos tumores la producción de genes mutados es un efecto dominante, así que la transferencia de una copia del gen normal al interior de la célula afectada puede tener un impacto escaso o nulo en su comportamiento maligno. En segundo lugar, la velocidad a la que aparecen mutaciones en una célula tumoral es tan alta que se pueden producir mutaciones en el gen normal introducido que inactiven su función. En tercer lugar, para que el resultado sea efectivo la copia normal del gen mutado debe ser introducida en todas las células cancerosas, lo que supone un problema en los tumores metastásicos. Estas limitaciones hacen que deban contemplarse otras formas de aplicar la terapia génica. Así, existen genes que estimulan la inmunidad que pueden ser transferidos a las células cancerosas consiguiendo que el sistema inmune activado actúe no sólo a nivel de las células modificadas genéticamente sino también sobre las células tumorales alojadas en cualquier lugar del organismo. Por otro lado, en tumores de crecimiento local se pueden introducir genes que produzcan enzimas capaces de convertir profármacos con baja o nula toxicidad en sus moléculas activas, de tal manera que se pueda hacer una quimioterapia más selectiva y a mayores dosis.

## ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Una gran variedad de enfermedades infecciosas crónicas son susceptibles de tratamiento con terapia génica, aunque la atención en el momento actual se centra en la infección por VIH<sup>7</sup>. Se han obtenido resultados significativos tanto en la vacunación post-exposición como en la expresión de genes en las células diana que las vuelvan incapaces de ser infectadas o de favorecer la replicación viral. Aún así persisten obstáculos serios para la terapia génica, como la selección, aislamiento y modificación genética de las células diana que favorece la aparición de mutantes resistentes.

## LAS HERRAMIENTAS DE LA TERAPIA GÉNICA

El material genético que puede ser transferido a la célula diana es muy diverso. Pueden ser genes naturales, fragmentos de DNA que codifican proteínas naturales con un efecto biológico conocido, o genes quiméricos, sintetizados en el laboratorio y que codifican para proteínas artificiales. Existe otro tipo de material genético que no ejerce su efecto terapéutico a través de una proteína: son los ribozimas, las secuencias antisentido y el RNA interferente. Todos ellos son secuencias cortas de ácidos nucleicos que se unen específicamente a secuencias de DNA o RNA y bloquean su expresión. Sirven para hacer que una célula pierda una función de forma específica.

En la terapia génica existen dos pasos críticos, la transferencia de los genes a las células apropiadas y su posterior expresión. La acción de transferencia de material genético a una célula diana es conocida como transducción y el gen transducido como transgén. La transducción de la célula diana puede realizarse fuera del organismo (*ex vivo*) o por administración directa (*in vivo*).

Existen un gran número de barreras presentes en los espacios intravascular, intersticial e intracelular que pueden impedir una adecuada transducción. Para proteger los genes se usan vehículos o vectores. Los vectores virales son los más utilizados y se fabrican eliminando las porciones del genoma viral que son esenciales para su replicación y sustituyéndolas por aquellos genes que se desea introducir en las células diana. La región que ocupan estos genes se llama "cassette" y habitualmente está formada por el transgén terapéutico y un promotor: una secuencia de DNA que dirige la expresión del transgén. El promotor puede ser universal, si expresa el transgén en cualquier célula transducida, o bien específico de tejido, si el transgén sólo es expresado en cierto tipo de células, o bien inducible, el transgén es expresado sólo cuando una droga inductora es administrada al paciente por separado (por ej. tetraciclina y mifepristone).

Los vectores virales constituyen los sistemas más eficaces para transferir genes, ya que son capaces de infectar una elevada proporción de células diana y son incapaces de replicarse ni producir enfermedad en el paciente tratado. Dentro de los vectores virales los más utilizados en la actualidad son los retrovirus y los adenovirus. Los retrovirus pueden integrar su material genético dentro del genoma celular de las células en división de tal forma que su progenie también será portadora del transgén<sup>8</sup>. Debido a esta característica son los que se usan con más frecuencia para la corrección permanente de enfermedades genéticas usando la transferencia genética *ex vivo*. Sus

principales inconvenientes son que sólo se integran en células en división y la posibilidad de inducir mutaciones al insertarse al azar en el genoma celular. Los vectores adenovirales pueden transducir muchos tipos de células humanas, incluyendo las que no están en división, y tienen un perfil de seguridad bueno. La mayor desventaja es su corto tiempo de expresión debido a la eliminación por el sistema inmune de las células transducidas que expresan proteínas virales<sup>9</sup>. La administración *in vivo* de DNA, bien sea directamente o introducido en vectores no virales, como liposomas, es atractiva por su facilidad de preparación y seguridad, pero como desventaja presenta la menor eficacia de transferencia génica que los vectores virales y la ausencia de mecanismos para mantener eficazmente el DNA dentro de las células<sup>10</sup>. El vector ideal sería aquel con tropismo específico por un tipo celular, que no fuera eliminado por la respuesta inmune y que permitiera la introducción precisa y estable del transgén y su producción a gran escala. Aún no existe este vector, de forma que teniendo en cuenta las ventajas y desventajas de los vectores disponibles se debe escoger el más adecuado para cada estrategia.

## LA APLICACIÓN DE LA TERAPIA GÉNICA EN LA HEPATOLOGÍA

Las enfermedades hepáticas son un reflejo de los éxitos y fracasos de la terapia génica en general. Vamos a revisar brevemente las distintas estrategias usadas para el tratamiento de las enfermedades hepáticas más relevantes, teniendo en mente que estas estrategias reflejan inteligentes formas de usar las herramientas existentes para la transferencia de genes en humanos y que por tanto cabe aplicarlas a las enfermedades de otros órganos y sistemas.

### ENFERMEDADES METABÓLICAS

La mayoría de las enfermedades hepáticas metabólicas son resultado de trastornos hereditarios monogénicos. Teóricamente aquellas que se producen por un déficit de producción de una proteína podrán ser curadas al añadir una versión correcta del gen alterado, siempre y cuando las células corregidas sobrevivan y se regeneren mejor que las células que mantienen la anomalía. Un buen ejemplo de esta situación es la tirosinemia, en la que existe un defecto en la enzima fumarilacetatoacetasa hidrolasa (FAH) y puede ser tratada de forma efectiva en modelos animales, tanto infundiendo *ex vivo* en hepatocitos autólogos vectores retrovirales con el gen correcto como con la administración regional *in vivo* de un vector adenoviral<sup>11</sup>. Una situación distinta se produce cuando las células corregidas no tienen mayor supervivencia ni capacidad de regeneración que las células anormales, como en la hipercolesterolemia familiar, el único camino entonces para tener éxito es alcanzar una extensa y duradera transducción de los hepatocitos *in vivo*.

En las situaciones en las que la propia proteína es la causa del daño celular, como en el déficit de alfa1-antitripsina, la introducción de la forma correcta del gen alterado puede ser insuficiente. En esta enfermedad la enzima se sintetiza con una conformación espacial anormal en el retículo endoplásmico de los hepatocitos por lo que no puede ser secretada a la circulación general y se acumula, produciendo así la patología hepática. Si se restablece la actividad enzimá-

tica con la transferencia del gen correcto a las células hepáticas se puede prevenir el enfisema pulmonar, pero no se evita la acumulación de la proteína aberrante en el tejido hepático<sup>12</sup>. Para conseguir la reparación del gen alterado que codifica la proteína alterada hay que utilizar herramientas sofisticadas como son los “quimeraplastos”, secuencias sintéticas de DNA o RNA que engañan a las células del propio paciente remediando el defecto genético.

El tratamiento intrauterino fetal de estas enfermedades con terapia génica presenta distintas ventajas ya que en este momento del desarrollo el feto tiene un elevado número de células madre que pueden ser transducidas y por otro lado tiene tolerancia inmunitaria.

### HEPATITIS VIRALES

En el tratamiento de las infecciones por los virus de la hepatitis B y C la terapia génica ha sido usada para mejorar la actividad regional de distintas citoquinas, incluyendo el interferón- $\alpha$ , el interferón- $\gamma$ , la interleucina 2, o la interleucina 12, permitiendo reducir sus efectos adversos a nivel sistémico<sup>13</sup>. Esta estrategia podría ser especialmente útil para pacientes que recaen tras una respuesta inicial a los tratamientos disponibles. Por otro lado, la transferencia génica puede hacer que las células sean resistentes a la infección viral bloqueando el ciclo vital del virus en distintos puntos. La interferencia con la propagación del virus puede lograrse utilizando moléculas antisentido, ribozimas o RNA interferentes, pero ninguna de estas estrategias ha pasado a la fase de ensayos clínicos<sup>14-15</sup>.

La prevención de las infecciones puede abordarse mediante la vacunación genética, consistente en la transferencia de genes que expresan antígenos virales inmunogénicos a tejidos con capacidad de despertar el sistema inmune como la piel. En la actualidad hay en marcha ensayos clínicos en fase I para valorar la seguridad y eficacia de las vacunas genéticas para la prevención de la infección por el virus de la hepatitis B.

### CIRROSIS

La cirrosis hepática puede servir de ejemplo de enfermedad compleja, tanto en su etiología como en su espectro de manifestaciones, en la que la elección de un mecanismo patogénico concreto y relevante sobre el que actuar permite ser generar un tratamiento útil. En este caso, la terapia génica en la cirrosis hepática está enfocada fundamentalmente a la prevención de la fibrogénesis y la estimulación de la regeneración hepática. El factor de crecimiento transformante b (TGF- $\beta$ ) juega un papel capital en la fibrogénesis de la cirrosis y su acción puede modularse de varias formas. Por un lado, se puede bloquear específicamente su efecto haciendo que las células hepáticas expresen en su membrana una forma alterada del receptor del TGF- $\beta$  que no sea capaz de transmitir la señal intracelular tras su unión<sup>16</sup>. O bien se puede disminuir su acción haciendo que el músculo fabrique un receptor soluble que secuestre el TGF- $\beta$  circulante. En ambos casos, la disminución de la actividad del TGF- $\beta$  tiene como resultado una menor fibrosis en los modelos animales. Por otro lado, la producción tanto a nivel sistémico como local de agentes favorecedores de la regeneración como el factor de crecimiento de hepatocitos

(HGF) o el factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF-1) reduce la fibrosis y aumenta la supervivencia de los animales cirróticos.

La hipertensión portal es también susceptible de tratamiento con terapia génica. Teniendo en cuenta que la producción disminuida de óxido nítrico intrahepático contribuye a la hipertensión portal en la cirrosis, la transferencia de la óxido nítrico sintetasa a las células del endotelio sinuosidad o a las células estrelladas hepáticas puede aumentar la producción hepática de óxido nítrico y reducir la resistencia al flujo sanguíneo. En animales cirróticos con hipertensión portal, tanto la resistencia intrahepática como la presión portal se reducen enormemente de esta manera<sup>17</sup>.

### TUMORES MALIGNOS

La estrategia más atractiva inicialmente para tratar el cáncer, pero probablemente la más difícil de llevar a cabo, es dar con las alteraciones genéticas clave de las células malignas y corregirlas<sup>18</sup>. Un ejemplo es el gen supresor tumoral p53, que está inactivado en muchos tumores y, como consecuencia de esto, se activa el crecimiento tumoral y aumenta la resistencia a la quimioterapia y la radioterapia. Teóricamente, si se transfiere la forma no mutada del gen p53 a las células tumorales que lo tienen inactivado se debería inhibir su crecimiento y aumentar su sensibilidad a los quimioterápicos. Lo que se ha visto en modelos animales de tumores es que la administración repetida (por vía intraarterial o intratumoral) de un vector adenoviral que exprese el gen p53 inhibe el crecimiento tumoral<sup>19</sup>. En los ensayos clínicos en los que se ha empleado la inyección intratumoral de un vector como este, la acción es segura y es capaz de producir remisiones tumorales objetivas<sup>20</sup>. En otros tumores, parece que este tratamiento puede potenciar la acción de la quimioterapia y la radioterapia. En base a estos datos este producto ha sido autorizado en China, lo que hace de él el primer agente de terapia génica comercializado en el mundo.

La eficacia de muchos citostáticos depende del equilibrio entre su actividad antitumoral y sus efectos adversos. Transfiriendo al interior del tumor genes que producen enzimas que transforman profármacos en sus metabolitos tóxicos, se consigue poder dar dosis altas de citostáticos a nivel tumoral con bajos efectos sistémicos. El gen activador de profármacos mejor conocido es el de la timidin kinasa del virus herpes simple<sup>21</sup>. Esta enzima transforma el ganciclovir en un compuesto fosforilado que es tóxico para las células tumorales por inhibir la síntesis del DNA tanto nuclear como mitocondrial<sup>22</sup>. En modelos animales se ha observado que la transferencia de este gen a tumores seguida de la administración sistémica de ganciclovir produce remisiones tumorales<sup>23</sup>. En humanos, el tratamiento se ha mostrado seguro y, en ciertos tumores como la próstata, se está investigando su utilidad. Desde el punto de vista clínico, la mayor barrera para este tipo de estrategia es la obtención de una transducción tumoral significativa con la administración sistémica de los vectores, por lo que solo cabe aplicarlo en tumores localizados que no se puedan tratar por otros medios.

En la inmunoterapia génica se transfieren, a células tumorales o a células relevantes del sistema inmune, genes que producen moléculas capaces de estimular la respuesta inmune frente a las células

malignas, no importando en que lugar del organismo se encuentren. Una amplia variedad de genes que codifican para citocinas activadoras del sistema inmune, han resultado ser muy activos en modelos animales de muy distintas neoplasias. La transferencia intratumoral de estos genes se traduce en concentraciones de citocinas muy elevadas a nivel tumoral y despreciables a nivel sistémico. Como ejemplo, se ha visto en modelos animales que la transferencia del gen de la interleucina-12 a tumores hepáticos o al tejido hepático circundante ejerce una actividad antitumoral significativa, por su capacidad para activar linfocitos T citotóxicos y células natural killer, e inhibir la angiogénesis tumoral<sup>24,25</sup>. En humanos, este tratamiento es seguro y capaz de inducir la regresión tumoral, aunque su eficacia es bastante modesta porque la producción de interleucina-12 es intensa pero breve<sup>26</sup>. Las células dendríticas tienen la propiedad de iniciar y modular una respuesta inmune eficaz antitumoral después de una migración selectiva a los ganglios linfáticos y al bazo. Para aumentar su capacidad de presentación de antígenos, las células dendríticas pueden ser genéticamente modificadas *ex vivo* para expresar antígenos tumorales como es la alfa-fetoproteína, citocinas como la interleucina-12, o moléculas co-estimuladoras<sup>27</sup>. Algunas de estas estrategias están ya en fase de ensayo clínico y pronto habrá datos disponibles en humanos. Por otra parte, en modelos animales la vacunación genética usando antígenos tumorales, como la alfa-fetoproteína, tiene actividad antitumoral<sup>28</sup>.

La viroterapia hace referencia al uso de virus que han sido genéticamente modificados para replicarse selectivamente en las células tumorales, los llamados virus oncolíticos. Las células tumorales transducidas con los virus oncolíticos son destruidas como resultado de que estos se replican y producen nuevas partículas virales con capacidad de infectar el tejido tumoral adyacente. Algunos virus de forma innata ya presentan una preferencia por replicarse en ciertos tipos de células tumorales, como los virus o reovirus de la enfermedad de Newcastle. Pero muchos otros virus (adenovirus, herpes o influenza) pueden ser transformados en oncolíticos por una de estas tres vías. La primera, modificando la superficie externa del virus para que entre exclusivamente en las células tumorales. La segunda, modificando genéticamente el virus para que se replique sólo en las células con ausencia de un gen supresor tumoral como el p53. La tercera, modificando genéticamente el virus para que se replique sólo en presencia de una característica específica de un tipo tumoral (por ejemplo, la expresión de alfa-fetoproteína o de la transcriptasa reversa de telomerasa humana)<sup>29</sup>. Se ha observado una gran actividad antitumoral en modelos experimentales con los virus oncolíticos y estos pueden también ser usados como vectores para hacer que las células tumorales infectadas expresen genes terapéuticos en un intento de mejorar la actividad antitumoral con la estimulación de la respuesta inmune o induciendo apoptosis.

## CONCLUSIÓN

Es muy probable que las expectativas sobre la terapia génica se hayan exagerado y que en ocasiones este entusiasmo haya impedido ver que en realidad continúa siendo una técnica experimental y no una terapia clínica establecida y eficaz. Los obstáculos que impiden



el éxito clínico de la terapia génica tienen que ver más con las herramientas que con sus fundamentos. La expresión del transgén es fundamental para que una estrategia de terapia génica sea eficaz, particularmente en las destinadas a la corrección de alteraciones monogénicas heredadas. En la práctica se considera que el nivel de expresión de los genes transducidos a células somáticas desaparece en un breve periodo de tiempo o se mantiene de forma inconstante. No se conoce bien por qué se produce este fenómeno: tal vez porque existen mecanismos celulares que impiden una adecuada expresión de los genes o bien porque los promotores utilizados no son los adecuados y fallan. Además los datos disponibles de experimentos preclínicos con respecto a métodos de estudio de la expresión de los transgenes son escasos y no concluyentes.

Otra de las grandes barreras en el desarrollo clínico de la terapia génica es la capacidad de llevar el transgén a la célula diana, sobre todo para el tratamiento del cáncer. En la mayor parte de los casos los vectores disponibles tienen la capacidad de transducir tan sólo una pequeña minoría de células cuando se administran intratumoralmente y no son efectivos en llegar a las células tumorales tras la administración sistémica. Esta limitación puede ser parcialmente superada por agentes de terapia génica que induzcan un fuerte efecto de vecindad, como la activación de profármacos o la inmunoterapia génica.

En general, los factores necesarios para conseguir que la terapia génica sea efectiva no son diferentes que para otras modalidades terapéuticas nuevas. Incluyen los factores técnicos (la distribución y expresión genética), clínicos (eficacia y seguridad terapéutica) y factores socioeconómicos. Se está realizando un enorme trabajo en la actualidad para mejorar la capacidad de los vectores para transducir células de forma segura y específica, para aumentar la capacidad de regulación de la expresión del transgén por los promotores y para mejorar el conocimiento de las condiciones más adecuadas para la transferencia génica. Aún así, todavía es necesario un gran esfuerzo para conseguir el éxito final. Los resultados de la terapia génica deben tener beneficios que pesen más que los riesgos y debe ofrecer ventajas sobre los tratamientos convencionales, sólo así puede llegar a ser aceptada en la práctica médica general.

## BIBLIOGRAFÍA

1. BLAESE RM, CULVER KW, MILLER AD, CARTER CS, FLEISHER T, CLERICI M et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA- SCID: initial trial results after 4 years. *Science* 1995; 270: 475-480.
2. CAVAZZANA-CALVO M, HACEIN-BEY S, DE SAINT BASILE G, GROSS F, YVON E, NUSBAUM P et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 2000; 288: 669-672.
3. HACEIN-BEY-ABINA S, VON KALLE C, SCHMIDT M, MCCORMACK MP, WULFFRAAT N, LEBOULCH P et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 2003; 302: 415-419.
4. BLOMBERG P, SMITH CI. Gene therapy of monogenic and cardiovascular disorders. *Expert Opin Biol Ther* 2003; 3: 941-949.
5. TAMIRISA KP, MUKHERJEE D. Gene therapy in cardiovascular diseases. *Curr Gene Ther* 2002; 2: 427-435.

6. SANGRO B, HERRAIZ M, PRIETO J. Gene therapy of neoplastic liver diseases. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 135-148.
7. STATHAM S, MORGAN RA. Gene therapy clinical trials for HIV. *Curr Opin Mol Ther* 1999; 1: 430-436.
8. WEBER E, ANDERSON WF, KASAHARA N. Recent advances in retrovirus vector-mediated gene therapy: teaching an old vector new tricks. *Curr Opin Mol Ther* 2001; 3: 439-453.
9. ST GEORGE JA. Gene therapy progress and prospects: adenoviral vectors. *Gene Ther* 2003; 10: 1135-1141.
10. DAVIS ME. Non-viral gene delivery systems. *Curr Opin Biotechnol* 2002; 13: 128-131.
11. OVERTURF K, AL DHALIMY M, OU CN, FINEGOLD M, TANGUAY R, LIEBER A et al. Adenovirus-mediated gene therapy in a mouse model of hereditary tyrosinemia type I. *Hum Gene Ther* 1997; 8: 513-521.
12. STECENKO AA, BRIGHAM KL. Gene therapy progress and prospects: alpha-1 antitrypsin. *Gene Ther* 2003; 10: 95-99.
13. AURISICCHIO L, DELMASTRO P, SALUCCI V, PAZ OG, ROVERE P, CILIBERTO G et al. Liver-specific alpha 2 interferon gene expression results in protection from induced hepatitis. *J Virol* 2000; 74: 4816-4823.
14. KRONKE J, KITTLER R, BUCHHOLZ F, WINDISCH MP, PIETSCHMANN T, BARTENSCHLAGER R et al. Alternative approaches for efficient inhibition of hepatitis C virus RNA replication by small interfering RNAs. *J Virol* 2004; 78: 3436-3446.
15. CHIOU HC, LUCAS MA, COFFIN CC, BANASZCZYK MG, ILL CR, LOLLO CP. Gene therapy strategies for the treatment of chronic viral hepatitis. *Expert Opin Biol Ther* 2001; 1: 629-639.
16. QI Z, ATSUCHI N, OOSHIMA A, TAKESHITA A, UENO H. Blockade of type beta transforming growth factor signaling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 2345-2349.
17. YU Q, SHAO R, QIAN HS, GEORGE SE, ROCKEY DC. Gene transfer of the neuronal NO synthase isoform to cirrhotic rat liver ameliorates portal hypertension. *J Clin Invest* 2000; 105: 741-748.
18. PRIETO J, QIAN C, SANGRO B, MELERO I, MAZZOLINI G. Biologic therapy of liver tumors. *Surg Clin North Am* 2004; 84: 673-696.
19. XU GW, SUN ZT, FORRESTER K, WANG XW, COURSEN J, HARRIS CC. Tissue-specific growth suppression and chemosensitivity promotion in human hepatocellular carcinoma cells by retroviral-mediated transfer of the wild-type p53 gene. *Hepatology* 1996; 24: 1264-1268.
20. HABIB NA, MITRY RR, SADRI R. p53 and gene therapy for hepatocellular carcinoma. *Adv Exp Med Biol* 1998; 451: 499-504.
21. FILLAT C, CARRIO M, CASCANTE A, SANGRO B. Suicide gene therapy mediated by the Herpes Simplex virus thymidine kinase gene/Ganciclovir system: fifteen years of application. *Curr Gene Ther* 2003; 3: 13-26.
22. HERRAIZ M, BERAZA N, SOLANO A, SANGRO B, MONTOYA J, QIAN C et al. Liver failure caused by herpes simplex virus thymidine kinase plus ganciclovir therapy is associated with mitochondrial dysfunction and mitochondrial DNA depletion. *Hum Gene Ther* 2003; 14: 463-472.
23. QIAN C, BILBAO R, BRUNA O, PRIETO J. Induction of sensitivity to ganciclovir in human hepatocellular carcinoma cells by adenovirus-mediated gene transfer of herpes simplex virus thymidine kinase. *Hepatology* 1995; 22: 118-123.
24. MAZZOLINI G, QIAN C, XIE X, SUN Y, LASARTE JJ, DROZDZIK M et al. Regression of colon cancer and induction of antitumor immunity by intratumoral injection of adenovirus expressing interleukin-12. *Cancer Gene Therapy* 1999; 6: 514-522.

25. BARAJAS M, MAZZOLINI G, GENOVE G, BILBAO R, NARVAIZA I, SCHMITZ V et al. Gene therapy of orthotopic hepatocellular carcinoma in rats using adenovirus coding for interleukin 12. *Hepatology* 2001; 33: 52-61.
26. SANGRO B, MAZZOLINI G, RUIZ J, HERRAIZ M, QUIROGA J, HERRERO I et al. Phase I trial of intratumoral injection of an adenovirus encoding interleukin-12 for advanced digestive tumors. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1389-1397.
27. MELERO I, DUARTE M, RUIZ J, SANGRO B, GALOFRE J, MAZZOLINI G et al. Intratumoral injection of bone-marrow derived dendritic cells engineered to produce interleukin-12 induces complete regression of established murine transplantable colon adenocarcinomas. *Gene Therapy* 1999; 6: 1779-1784.
28. GRIMM CF, ORTMANN D, MOHR L, MICHALAK S, KROHNE TU, MECKEL S et al. Mouse alpha-fetoprotein-specific DNA-based immunotherapy of hepatocellular carcinoma leads to tumor regression in mice. *Gastroenterology* 2000; 119: 1104-1112.
29. BRISTOL JA, ZHU M, JI H, MINA M, XIE Y, CLARKE L et al. In vitro and in vivo activities of an oncolytic adenoviral vector designed to express GM-CSF. *Mol Ther* 2003; 7: 755-764.