

January 2018

Terapia génica en el manejo de las distrofias retinianas

Luz Ángela Hernández

Universidad de La Salle, Bogotá, angelahernandez7@unisalle.edu.co

Ginna Tatiana Tachack Abril

Universidad de La Salle, Bogotá, gtachack11@unisalle.edu.co

José Luis Henao Calderón

jlhenao@unisalle.edu.co

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/svo>



Part of the [Eye Diseases Commons](#), [Optometry Commons](#), [Other Analytical, Diagnostic and Therapeutic Techniques and Equipment Commons](#), and the [Vision Science Commons](#)

Citación recomendada

Hernández LÁ, Tachack Abril GT y Henao Calderón JL. Terapia génica en el manejo de las distrofias retinianas. *Cienc Tecnol Salud Vis Ocul.* 2018;(2): 57-67. doi: <https://doi.org/10.19052/sv.5078>

This Artículo de Revisión is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular* by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Artículos de revisión

Terapia génica en el manejo de las distrofias retinianas

Gene therapy in the treatment of retinal dystrophies

JOSÉ LUIS HENAO CALDERÓN*✉
GINNA TATIANA TACHACK ABRIL**
LUZ ÁNGELA HERNÁNDEZ**

Recibido: 20-10-2017 / Aceptado: 20-02-2018

RESUMEN

La terapia génica se define como los procedimientos de transferencia de material genético a órganos específicos, con el propósito de producir efectos terapéuticos para así corregir defectos o enfermedades genéticas, ya sea de forma directa (*in vivo*) o indirecta (*ex vivo*), a través del uso de células como vehículo de liberación. Las enfermedades oculares, principalmente las maculares, tienen un alto componente genético. Esto ha llevado a varios estudios que sugieren tratamientos alternativos como la terapia génica para su manejo. Los estudios han concluido que la terapia génica es una estrategia terapéutica novedosa y prometedora que podría proporcionar una forma más efectiva para tratar estas enfermedades. El objetivo de este artículo es presentar una revisión de los conceptos de la terapia génica, los tipos de vectores y la terapia génica en las distrofias retinianas.

Palabras clave: configuración genética, distrofias retinianas, mácula, terapia génica.

Keywords: genetic configuration, retinal dystrophies, macula, gene therapy.

ABSTRACT

Gene therapy is defined as procedures to transfer genetic material to specific organs, with the purpose of producing therapeutic effects that seek to correct defects or genetic diseases, either directly (*in vivo*) or indirectly (*ex vivo*), by using cells as a delivery vehicle. Eye diseases, mainly macular diseases, have a high genetic component. This has led to several studies suggesting alternative treatments such as gene therapy for their treatment. Studies have concluded that gene therapy is a novel and promising therapeutic strategy that could provide a more effective way to treat these diseases. The objective of this article is to present a review of the concepts of gene therapy, types of vectors, and gene therapy in retinal dystrophies.

* Optómetra. Magíster en Ciencias de la Visión de la Universidad de La Salle. Docente Facultad de Ciencias de la salud, Universidad de La Salle, Colombia. ✉ jlhenao@unisalle.edu.co

** Estudiantes X semestre, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de La Salle, Colombia.

Cómo citar este artículo: Henao Calderón JL, Tachack Abril GT, Hernández LA. Terapia génica en el manejo de las distrofias retinianas. *Cienc Tecnol Salud Vis Ocul*. 2018;16(2):57-67. doi: <https://doi.org/10.19052/sv.5078>

INTRODUCCIÓN

La terapia génica alude a los procedimientos de transferencia de material genético a órganos específicos, cuyo propósito es producir efectos terapéuticos para así corregir defectos o enfermedades genéticas. Su finalidad es restaurar, añadir, eliminar o modificar la expresión génica para prevenir o reducir efectos de la enfermedad a través del uso de células como vehículo de liberación, ya sea de forma directa (*in vivo*) —en la que la modificación genética de la célula es en el interior del organismo— o indirecta (*ex vivo*) —cuando la manipulación genética ocurre fuera del organismo, en un tubo de ensayo— (figura 1) (1-4). La terapia génica evolucionó luego de que estudios confirmaran que algunas enfermedades son causadas cuando un individuo hereda un gen que se encuentra disfuncional. La modificación de los procesos de transferencia tiene enfoques como: sustitución de un gen mutado por una

copia funcional del gen; inactivar un gen mutado que está funcionando de forma incorrecta o introducir un gen completamente nuevo para ayudar a combatir la enfermedad; reparación de un gen anormal a través de una mutación reversa selectiva o la regulación del grado de activación o desactivación de un gen (5-7).

El propósito de este artículo es dar a conocer los conceptos relacionados con la terapia génica en el manejo de las distrofias retinianas. Se revisó de manera exhaustiva la literatura científica, disponible en las bases de datos Science Direct, Pubmed, SciELO, Taylor and Francis, y en libros en español e inglés. Las fechas de publicación de la bibliografía se encontraron entre 1999 y 2017. Se aplicaron factores de impacto y de prestigio de los artículos revisados teniendo en cuenta el artículo “Evaluación de la calidad de los artículos y de las revistas científicas: propuesta del factor de impacto ponderado y de un índice de calidad” (8).

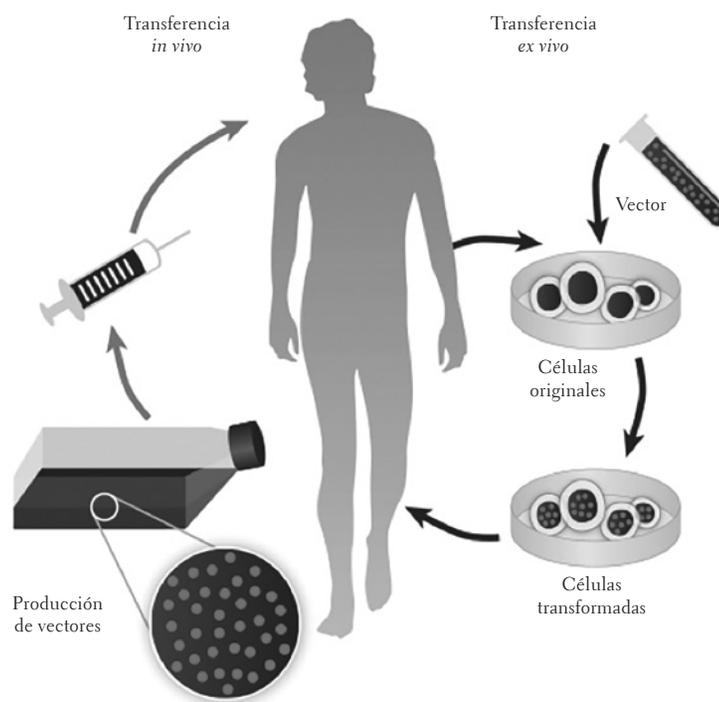


FIGURA 1. Vehículos de liberación: *in vivo*, modificación genética en el interior del organismo; *ex vivo*, modificación genética fuera del organismo

Fuente: Fundación Mencía. La terapia génica como posible solución a las enfermedades genéticas [internet]. 2017 [citado 2017 sep. 20]. Disponible en: <http://www.fundacionmencia.org/es/enfermedades-geneticas/terapia-genica/>

BREVE HISTORIA DE LA TERAPIA GÉNICA

El estudio de la terapia génica tuvo sus primeras aproximaciones en 1928, en el momento en el que el investigador británico James Alloway descubrió un “factor transformante” que permitía cambiar “algo” dentro de las células bacterianas que modificaba sus funciones y modos de acción. A esta conclusión llegó luego de participar en estudios junto con Frederick Griffith en neumonía con neumococo tipos I y II. Gracias a posteriores investigaciones acerca de este “factor transformante”, en 1944 terminó entendiéndose que los genes están compuestos por proteínas, lo que lo llevó a posteriores estudios que recibieron incluso el Premio Nobel en Genética Bacteriana (9).

Realmente se conceptualizó el estudio de la terapia génica entre los años setenta y ochenta, pero se aplicó hasta los noventa. Se llegó a tener un conocimiento del genoma humano y el descubrimiento de genes y vías que desempeñan un papel clave en el funcionamiento del cuerpo humano, acompañado con el desarrollo del vector de transferencia. Análogamente, comenzó un programa internacional de investigación que fue diseñado para documentar y comprender las secuencias que componen el ADN humano, con lo cual se apoyaron muchos objetivos en medicina molecular, incluso una mejor comprensión y manejo de cáncer y las enfermedades raras (6,10).

TIPOS DE TERAPIA GÉNICA Y VECTORES

Existen dos tipos de terapia génica:

1. Somática: es la modificación genética de las células somáticas del cuerpo de una determinada especie celular. Se lleva a cabo modificando un gen enfermo a través de la sustitución en la parte interna de la célula interesada; luego de esto se intercambian genes reemplazando un gen alterado por uno sin alteración. Esta terapia es específica para la persona; por lo tanto, no se transmite a la descendencia (11).

2. Germinal: tiene como finalidad evitar el progreso de enfermedades congénitas. Por dicha razón se modifica la dotación genética de las células germinales o gametos, lo cual se transmite a futuras generaciones (12).

Estos tipos de terapia génica se presentan en la figura 2.

La terapia génica tiene tres componentes: el vector, el constructo y la célula diana. El vector es un portador, es decir, el que transporta el constructo dentro de la célula diana (7). El constructo es el componente terapéutico, el mismo gen, la proteína funcional o faltante para la célula diana, que incluye un promotor y un ácido nucleico que puede ser ADN complementario (ADNc), ARN de interferencia pequeño (ARNsi), microARN (miARN) o ARNh de horquilla pequeño (shARN) (13). La célula diana es la célula que contiene el gen alterado sobre el cual hay que realizar la modificación (14).

Por otro lado, se encuentran vehículos de administración comúnmente conocidos como vectores. Estos se clasifican en dos clases: vectores de ADN (no virales) y vectores virales.

1. Los no virales fueron los primeros en ser desarrollados. El ADN se encuentra en un plásmido (molécula de ADN de doble cadena circularizada), molécula que puede estar de manera estable e independiente al genoma de la célula huésped (15). El ADN plasmídico (ADNp) puede ser introducido de forma directa *in vivo* mediante una variedad de técnicas de inyección hidrodinámica; alcanza la máxima eficiencia de transferencia génica en órganos principales, inyectando rápidamente un gran volumen de solución de ADNp e induciendo temporalmente poros en la membrana celular (16). Para ayudar a las moléculas de ADNp cargadas negativamente a penetrar en las membranas celulares hidrófobas, se han utilizado productos químicos que incluyen lípidos catiónicos y polímeros catiónicos para

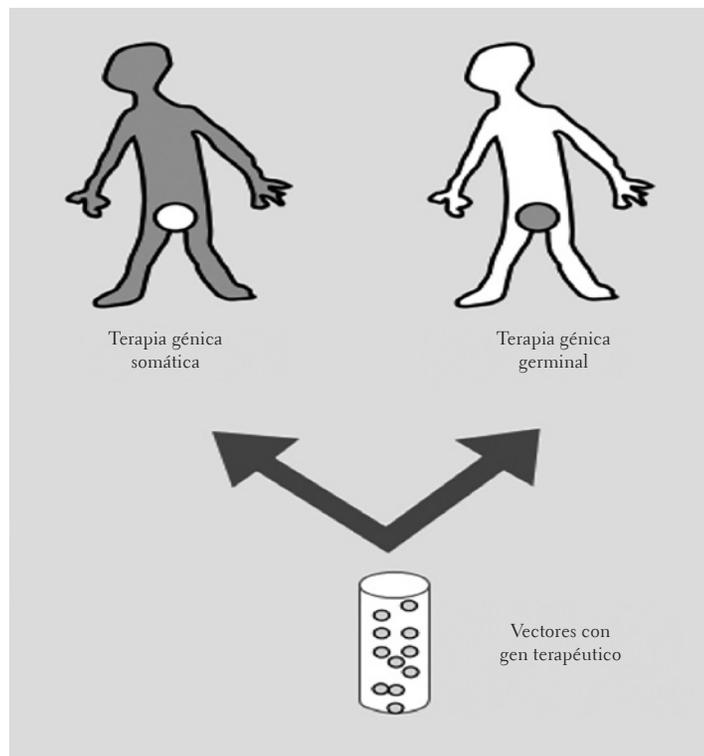


FIGURA 2. Terapia somática: es específica para la persona y no se transmite a la descendencia; terapia germinal: se modifica la dotación genética de las células germinales o gametos

Fuente: Isamat M. Actualización terapéutica: terapia génica [internet]. Universidad de Barcelona [citado 2017 sep. 20]; 2017. Disponible en: <http://www.ub.edu/legmh/capitols/isamat.pdf>

condensar ADNp en lipoplexos y policelices, respectivamente. Estas nanopartículas protegen el ADNp de la degradación de nucleasas en el espacio extracelular y facilitan la entrada en células diana (15,17).

2. Los vectores virales (VV) aprovechan la naturaleza infecciosa y la capacidad de transmisión de genes de ciertos virus, pero se diseñan deliberadamente para minimizar el daño, eliminando tantos genes víricos como sea posible. Se obtienen por eliminación de uno o más genes indispensables para la replicación del virus y su sustitución por el gen terapéutico (15). Es decir, el nuevo virus es imperfecto. Por tal razón, tiene la capacidad de infectar las células, pero no se multiplica entre ellas. Es necesario recalcar que el virus se puede transformar en su estructura por medio de

diversas técnicas. En este lugar ocupa un vector recombinante relativamente seguro, solo si se sustituyen los genes responsables de su reproducción y virulencia por los genes terapéuticos, manteniendo su capacidad infecciosa intacta. Los VV poseen una elevada eficacia de transfección de genes; son capaces de infectar las células diana que en algunos casos llega a ser incluso del 100% (18).

Algunos de los diferentes tipos de virus utilizados como vectores virales de terapia génica son:

1. Retrovirus: pertenecen a una clase de virus con material genético ARN de cadena sencilla; crean copias de ADN de doble cadena con la enzima transcriptasa inversa en el genoma. Pueden ser integradas en el cromosoma de la célula huésped por otra

- enzima que lleva el virus llamado integrasa. Esta célula es modificada para contener un nuevo gen (19). La mayor desventaja de este tipo de vector es que la enzima integrasa puede insertar material genético del virus en cualquier posición del genoma del huésped, lo que conduce a mutagénesis de inserción; es decir, podría llegar al cáncer (20,21). Empero, el ensayo clínico que usa el vector retroviral para tratar la deficiencia inmunológica combinada grave ligada al cromosoma X representa una de las aplicaciones más exitosas de la terapia génica. A medida que los investigadores se han vuelto más seguros, han comenzado a inyectar retrovirus alterados directamente en los tejidos donde se necesitan los genes corregidos (22,23).
2. Adenovirus: son más grandes y complejos que los retrovirus. Por esta razón tienen capacidad de infectar una cantidad más amplia de células de forma eficaz, incluyendo las células pulmonares (15). Algunos investigadores para evitar el problema de insertar genes en sitios erróneos han recurrido a esta clase de virus; no obstante, por su composición de ADN lineal de doble cadena pueden causar infección respiratoria, intestinal u ocular (24). Cuando el adenovirus infecta una célula huésped, el material genético del virus no se integra en el material genético de esta. Por el contrario, la molécula de ADN que se introduce queda libre en el núcleo de la célula huésped, y la instrucción en la molécula extra de ADN se transcribe como cualquier otro gen. Su mayor desventaja es que son muy predisuestos a ser atacados por el sistema inmune del paciente y los altos niveles de virus requeridos para el tratamiento a menudo provocan una respuesta inflamatoria inesperada. A pesar de estos inconvenientes, estos vectores se han utilizado para tratar el cáncer de hígado y el de ovarios; de hecho, el primer producto de terapia génica con licencia para tratar cáncer de cabeza y cuello es *gendicina*, un producto adenoviral p53 (25).
 3. Los virus adenoasociados (VAA) poseen un genoma de ADN monocatenario. Son virus no patógenos, razón por la cual no presentan respuestas inmunes en los pacientes. La carga útil de los VAA es relativamente limitada, ya que son pequeños, no autónomos, y poseen solo dos genes en su estado natural. Podrían provocar daño genético no intencionado debido a que el virus inserta sus genes directamente en el ADN de la célula huésped (26). El ADN recombinante, es decir, la molécula de ADN artificial *in vitro*, no contiene ningún genoma viral y solo el gen terapéutico no se integra en el genoma, pero sí se fusiona en su extremo para crear formas episómicas circulares que vaticinan la causa primaria de la expresión génica a largo plazo. Actualmente se utiliza en estudios preliminares para tratar la enfermedad de la sangre hereditaria, la hemofilia, el músculo y la enfermedad ocular. También se han iniciado ensayos clínicos para utilizar vectores VAA para administrar genes al cerebro, ya que el virus puede infectar células no divisorias como las neuronas en las que se expresa su genoma a largo plazo (10).
 4. Virus del herpes simple (VHS): es un virus neurotrópico que se usa principalmente para la transferencia de genes en el sistema nervioso. Tiene un amplio genoma, lo cual permite insertar grandes cantidades de gen terapéutico en solo un virus, lo que lleva a cabo durante periodos largos de tiempo infecciones latentes en la célula hospedadora. El VHS puede infectar una gran parte de tejidos, incluyendo células nerviosas, pulmonares, musculares, pancreáticas y hepáticas. El virus herpes simple tipo 1 (VHS-1) es capaz de infectar neuronas que no son rechazadas por el sistema inmunológico. Los anticuerpos contra VHS-1 son comunes en los seres humanos. Sin embargo, las complicaciones debidas a las infecciones por herpes son raras. Estos virus están asociados a alteraciones linfoproliferativas; por tanto, para su uso como vector es necesario identificar estos genes y eliminarlos, y luego seleccionar

los que permitan la reproducción del virus y el mantenimiento del plásmido viral (27).

Tanto los vectores virales como los no virales pueden entregar directamente genes en el cuerpo humano. Los diferentes vectores utilizados en terapia génica se presentan en la tabla 1.

TERAPIA GÉNICA EN ENFERMEDADES OCULARES

Las enfermedades oculares tienen un alto componente genético. Esto ha llevado a varios estudios que sugieren tratamientos alternativos como la terapia génica para su manejo (28). Los estudios han determinado que la terapia génica es una estrategia terapéutica novedosa y prometedora que podría proporcionar una forma más efectiva para tratar estas enfermedades (29).

El ojo es un órgano fácilmente accesible, con privilegio inmunológico, que proporciona ventajas para que sea un blanco terapéutico ideal. Dentro de las enfermedades oculares que más se han estudiado desde la biología molecular, genética y terapia génica se encuentran: las neovascularizaciones coroideas y retinales como la retinopatía diabética, la retinopatía de la prematuridad y la degeneración macular relacionada con la edad (de la cual se hablará más adelante). Se encuentran

otros genes-factores inmunológicos con propiedades antiangiogénicas, además del conocido factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que han respondido muy bien en experimentos con retinas isquémico-inducidas en ratones (30,31).

Por otro lado, estudios en enfermedades que conllevan degeneración del nervio óptico, células ganglionares y fotorreceptores, como la retinosis pigmentosa, muestran que la liberación de vectores con genes modificados para el tratamiento de la enfermedad incrementa la sensibilidad visual en las neuronas del colículo superior. Estos resultados son muy específicos del gen Prph2, gen con el que se han realizado otras investigaciones en las que se han encontrado incluso funciones de protección de los segmentos externos de los fotorreceptores (32,33). En cuanto a glaucoma, se han encontrado factores como el factor neurotrófico derivado del cerebro, factor neurotrófico ciliar y factor neurotrófico de las células ciliares, que luego de ser transmitidos con VAA en ratones demuestran propiedades neuroprotectoras y supervivencia de las células ganglionares de la retina. Algunos estudios han apuntado a la disminución de la presión intraocular por medio de la terapia génica como alternativa de tratamiento para glaucoma. Sin embargo, debido a respuestas inflamatorias no deseadas, los vectores han tenido que ser reconsiderados (34-39).

TABLA 1. Vectores utilizados para la terapia génica con ventajas e inconvenientes descritos

VECTOR	VENTAJAS	INCONVENIENTES
Retrovirus	<ul style="list-style-type: none"> • Integración estable • Fácil manejo • No provocan respuesta inmune • Transducción eficiente 	<ul style="list-style-type: none"> • Bajo título • Posible mutación insercional • Extinción de transgén <i>in vivo</i> • Requieren proliferación celular
Adenovirus	<ul style="list-style-type: none"> • Células en reposo o replicación • Episomales • Estables <i>in vivo</i> • Títulos altos 	<ul style="list-style-type: none"> • Respuesta inmune e inflamatoria • Direccionalidad difícil • Difícil manejo
Virus adenoasociados (VAA)	<ul style="list-style-type: none"> • Células en reposo o replicación • Posible integración específica • Poco inmunogénicos • Títulos altos • No son patógenos en humanos 	<ul style="list-style-type: none"> • Poca longitud del transgén • Dificiles de producir en gran cantidad • No parecen transducir a todo tipo de células <i>in vivo</i> • Posible mutación insercional
Virus herpes simple (VHS)	<ul style="list-style-type: none"> • Células en reposo • Episomales • Adecuados para el sistema nervioso 	<ul style="list-style-type: none"> • Patogenicidad • Difícil manejo

Fuente: Rozalén J, Ceña V, Jordán J. Terapia génica. Vectores de expresión. *Offarm*. 2003;22(8):102-8.

Se han reportado estudios en otras enfermedades como la aniridia, los cuales demuestran que la implantación posnatal del gen PAX6 (gen causante de la aniridia) en ratones restaura la actividad eléctrica en la retina (40-42). En el retinoblastoma, la terapia génica ha producido reducción y detención del crecimiento de la masa por medio de los mecanismos antiapoptóticos del gen RB1, que no permite su crecimiento. Sin embargo, los efectos inflamatorios severos por el tipo de vector usado han hecho que los estudios se mantengan en fases experimentales (43,44).

La neovascularización corneal, el melanoma de coroides y otras malformaciones congénitas relacionadas con el ojo han sido estudiadas con resultados prometedores. Todas estas enfermedades están relacionadas con condiciones de baja visión y ceguera, lo que hace de la terapia génica una alternativa para considerar en la prevención y manejo de estas patologías (45,46).

TERAPIA GÉNICA EN LAS DISTROFIAS RETINIANAS

Las distrofias retinianas son una de las principales causas de deficiencia visual severa. La retina es la encargada de la visión central detallada y periférica para el movimiento y la adaptación a las condiciones de iluminación. Está formada por diversas capas de fotorreceptores llamados conos y bastones, de células ganglionares y de pigmentos de xantofilas, luteína y zeaxantina. La alteración de la función retiniana hace que se pierdan las habilidades de lectura, el reconocimiento de rostros, la percepción del movimiento, de la luz y de los colores (47). Una clasificación de las distrofias retinianas se encuentra en la tabla 2.

La enfermedad de Stargardt es la degeneración retiniana juvenil más común caracterizada por un daño rápido de la visión central causada por diferentes mutaciones en el gen ABCA4. Presenta un gran tamaño y elevada heterogeneidad polimórfica, que se traduce en una amplia variabilidad clínica. Los lentivirus (retrovirus) han sido los vectores que

mejor han funcionado para la transducción de genes de los fotorreceptores con gen ABCA4 en conejos y macacos, sin producirse efectos secundarios (48). De acuerdo con los resultados anteriores, ya se ha procedido a realizar ensayos clínicos en humanos. El único reporte hasta la fecha está en el primer nivel de dosis; dicho reporte menciona que han sido tratados con inyección subretinal ocho pacientes empleando el vector lentivirus que porta el gen ABCA4, sin ningún efecto adverso serio que se va a proceder al siguiente nivel de dosis. Sin embargo, su eficacia aún está por probarse. Podría llegar a beneficiar principalmente en la detención de la progresión de la enfermedad (49).

La amaurosis congénita de Leber (ACL) es causada por mutaciones en el gen RPE65 (epitelio pigmentario de la retina de 65 kDa), que se clasifica como LCA2. Los pacientes con LCA2 presentan nictalopía, nistagmus y mala visión antes del año de vida. Logran mejoría de la visión hacia la adolescencia y disminución progresiva de esta entre la tercera y quinta década. En modelos murinos se demostró la seguridad y la eficacia de la terapia génica subretinal, utilizando el virus recombinante adenoasociado 2 (rAAV2) que porta el gen RPE65, con lo cual se obtuvo una restauración de la función visual (29,50-52).

Dado que el éxito de la terapia génica en modelos animales deficientes en RPE65 tuvo gran auge, investigadores decidieron realizar ensayos clínicos en ojos humanos. Los pacientes estudiados (n = 12) debieron ser sometidos a vitrectomía para la posterior aplicación de inyecciones subretinianas de RPE65 humano por medio del vector rAAV2 (rAAV-CB-hRPE65) en el ojo con menor visión. Se evidenció tolerancia a la transducción sin producir efectos adversos graves relacionados con el tratamiento. Los efectos adversos más frecuentes estuvieron relacionados principalmente con el procedimiento quirúrgico, como hemorragia subconjuntival e hiperemia ocular. La investigación observó en el ojo tratado aumento de la agudeza visual mejor corregida en cinco pacientes, mejoría en el área de campo visual cinético, mejoría

TABLA 2. Clasificación de las capas retinianas y las distrofias que presentan cada una

CAPAS DE LA RETINA	DISTROFIAS
Capas de fibras nerviosas	Retinosquiasis juvenil ligada al X
EPR y fotorreceptores	<ul style="list-style-type: none"> • Acromatopsia • Distrofia de conos y bastones • Enfermedad de Stargardt (LCA) (retinitis pigmentosa pericentral) • Distrofia macular atrófica progresiva
EPR	<ul style="list-style-type: none"> • Distrofia viteliforme • Flavimaculatus • Distrofia del pigmento en forma de mariposa, o distrofia en patrón • Distrofia reticular • Distrofia macular cistoidea dominante
Membrana de Bruch's	<ul style="list-style-type: none"> • Distrofia pseudoinflamatoria • DMRE
Coroides	Distrofia coroidea central areolar.

Fuente: Deutman A, Hoyng C, van Lith-Verhoeven J. Macular dystrophies. Fam P, editor. Retina. Philadelphia: Elsevier; 2006. p. 1163-209.

en el volumen total de la isla de visión completa (campo visual periférico completo) y en la porción de 30° centrales de la isla de visión. Un solo sujeto mostró disminución de la agudeza visual y dos pacientes demostraron disminución en el área de campo visual cinético (52).

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) ha sido identificado como el factor proangiogénico promotor de la neovascularización coroidea en la degeneración macular relacionada con la edad (DMRE) húmeda. A pesar de que un experimento de modelo animal ideal de DMRE aún no se ha podido realizar, la neovascularización coroidea se ha inducido a través de la ruptura de la membrana basal de Bruch por medio de láser o la implantación local de citoquinas proangiogénicas, incluido el VEGF y el factor de crecimiento de fibroblastos básico. La neovascularización se disminuyó significativamente luego de hacer inyecciones intravítreas con VAA ligados a una proteína quimérica soluble nueva fms-like tyrosine kinase-1 (AAV-sFLT-1), conocida como inhibidora de VEGF, expresado de manera endógena, lo que liga y neutraliza el VEGF-A. Este estudio se realizó en primates no humanos. Vectores alternativos para la terapia génica en la neovascularización coroidea incluyen sistemas retrovirales-lentivirales.

Por otro lado, el advenimiento de la terapia génica anti-VEGF ha mejorado notablemente el

resultado del tratamiento de la DMRE exudativa, con la creación de un panel de ARNs de horquilla corta anti-VEGF (shRNA) y basado en los shRNAs más potentes; se desarrollaron horquillas de microRNA (miRNA) empleados a partir de VAA o lentivirus (LV) (53).

Las distrofias de conos constituyen un amplio grupo de enfermedades clínicamente heterogéneas en las cuales los fotorreceptores-conos o el EPR están principalmente afectados. La acromatopsia presenta una prevalencia estimativa de 1:40.000 individuos y se hereda exclusivamente de manera autosómica recesiva. Su etiología genética está casi descubierta. Las mutaciones en los cinco genes asociados con la enfermedad explican el 93% de los casos en población caucásica. Estos genes causantes codifican proteínas esenciales en la cascada de la fototransducción de los conos. El número reducido de genes relacionados hace de la acromatopsia una enfermedad candidata para la terapia génica. No obstante, estas terapias pueden ser exitosas solo en los casos en los que los conos aún están presentes en la retina. Los genes relacionados con esta enfermedad son: CNGB3, CNGA3, PDE6C, GNAT2 y PDE6H (54).

Estudios realizados en ratones con gen CNGB3 deficiente mostraron incremento en la densidad y supervivencia de los conos, estructura mejorada de los segmentos externos del cono y adecuada

compartimentación subcelular de las opsinas del cono, luego de terapia con el gen CNCB3-cDNA humano y un promotor cono-arrestina humano a través del vector adenoviricoasociado rAAV2/8. Este estudio representa la más grande restauración de la función visual en modelos animales de acromatopsia usando un constructo humano, el cual tiene ahora un alto potencial para ser utilizado en ensayos clínicos (55). Los estudios con el gen GNGA3 se han realizado en ovejas con mutación de este. Se ha realizado terapia génica bajo el control de un promotor de opsinas rojo-verde y el vector adenovirusasociado AAV5, con lo cual se ha tenido marcada mejoría en la respuesta de los conos a través de electroretinograma (56). Estudios con los genes PDE6C, GNAT2 y PDE6H se encuentran en fases experimentales y protocolos con animales, sin conclusiones por el momento (33).

Los pacientes con distrofia de conos presentan función normal de los conos inicialmente. No obstante, entre la primera y segunda décadas de vida tienen pérdida importante de la agudeza visual y alteraciones en la visión al color, además de fotofobia o hemeralopía. En los casos de mutación de la región ORF15 del gen RPGR, el primer síntoma es la hemeralopía precedido de pérdida de la agudeza visual; además, pueden presentar defectos refractivos miópicos de seis o más dioptrías. Su fenotipo puede presentar desde retinas sanas hasta patrones en ojo de buey o atrofia del EPR. Presenta una prevalencia estimativa de uno 1:30.000-40.000, y su patrón de herencia mendeliana más común es autosómico recesivo (57). Estudios realizados en caninos a través de la inyección del virus adenoasociado AAV5 o AAV8 codificando el gen RPGRIP1 muestran supervivencia mejorada de los fotorreceptores en las áreas retinianas transducidas, lo cual evidencia una mejor función retiniana (58).

La distrofia macular viteliforme de Best es causada por mutaciones con herencia autosómica dominante en el gen BEST1 (o VMD2), que decodifica la proteína bestrophin-1, un canal de cloruro

de calcio activado localizado en la membrana baso-lateral de las células del EPR. La edad de adquisición de la pérdida de visión central varía ampliamente entre la primera y sexta décadas. En la actualidad se encuentran estudios de posibles modelos animales con VAA mediados por ribozima. Sin embargo, estos estudios aún no presentan conclusiones (59).

Otras distrofias retinianas como la retinosquiasis juvenil ligada a X, distrofia pigmentaria en patrón de mariposa, distrofia reticular, distrofia macular cisoidea dominante, distrofia pseudoinflamatoria y la distrofia corioidea central aerolar se encuentran en estudios de su biología molecular, y no han entrado seriamente dentro de la investigación en terapia génica (33).

CONCLUSIONES

La terapia génica en el manejo de las distrofias retinianas es una alternativa novedosa y prometedora. En la actualidad, no existen tratamientos efectivos para este tipo de enfermedades genéticas, lo cual ha mantenido a las personas con estas condiciones dentro de clasificaciones de discapacidad visual. Se necesita mayor cantidad de investigaciones en el campo de la genética ocular para ampliar las posibilidades de manejo para este tipo de población.

Los ensayos clínicos que actualmente se han publicado demuestran que día a día la comunidad científica se acerca más a la prevención de estas enfermedades y a evitar la progresión en los pacientes que ya las presentan. Los efectos secundarios son una de las debilidades de esta terapia; empero, los efectos a largo plazo de los tratamientos exitosos prueban que estamos muy cerca de la prevención de muchos tipos de ceguera.

REFERENCIAS

1. Agudelo C, Martínez L. Terapia génica: una opción de tratamiento y una controversia ética. *Salud Uninorte*. 2013;29(2):341-50.

2. Alméciga-Díaz C, Sáenz H, Barrera L. Estado actual, consideraciones éticas y perspectivas de la terapia génica en errores innatos del metabolismo. *Rev Acad Colomb Cienc.* 2006;30(117):525-40.
3. Hajjar R. Potential of gene therapy as a treatment for heart failure. *J Clin Invest.* 2013;123(1):53-61.
4. Del Hoyo Gil L, Sevilla Azzati E, Serrano Garrote O, Campo Angora M, Tejada HD, López-Coterilla A. Gene and biological therapy for the treatment of cancer. *Farmacia Hospitalaria.* 1999;23(3):158-69.
5. García RS, González M. Terapia génica. Perspectivas y consideraciones éticas en relación con su aplicación. *Rev Haban Cienc Med.* 2008;7(1):1-15.
6. Moss JA. Gene therapy review. *Radiol Technol.* 2014;86(2):181-4.
7. Bikou O, Ishikawa K. Gene therapy for heart failure: status quo and quo vadis. *Discov Med.* 2017;(129):371-7.
8. Buéla-Casal G. Evaluación de la calidad de los artículos y de las revistas científicas: Propuesta del factor de impacto ponderado y de un índice de calidad. *Psicothema.* 2003;15(1):23-35.
9. Wirth T, Parker N, Ylä-Herttuala S. History of gene therapy. *Gene.* 2013;525(2):162-9.
10. Kantor B, McCown T, Leone P, Gray S. Clinical applications involving CNS gene transfer. *Adv Genet.* 2014;87:71-124.
11. Ronchera CL. La terapia del nuevo milenio: La manipulación genética. *Farmacia Hospitalaria.* 2000;24(2):61-3.
12. Valdés F. La terapia génica y sus aplicaciones. *Revista Científico-Estudantil de las Ciencias Médicas de Cuba [internet].* 2013 [citado 2017 sep. 9];253. Disponible en: <http://www.16deabril.sld.cu/rev/253/rb1.html>
13. Bionganino R, Priori S. Gene therapy to treat cardiac arrhythmias. *Nat Rev Cardiol.* 2015;12(9):531-46.
14. Cossetti C, Iraci N, Mercer T, Leonardi T, Alpi E, Drago D, et al. Extracellular vesicles from neural stem cells transfer IFN- γ via *lfngr1* to activate *Stat1* signaling in target cells. *Mol Cell.* 2014;56(2):193-204.
15. Wang D, Gao G. State-of-the-art human gene therapy: part I. Gene delivery technologies. *Discov Med.* 2014;18(97):67-77.
16. Li L, Krymskaya L, Wang J, Henley J, Rao A, Cao LF, et al. Genomic editing of the HIV-1 coreceptor *CCR5* in adult hematopoietic stem and progenitor cells using zinc finger nucleases. *Mol Ther.* 2013;21(6):1259-69.
17. Foldvari M, Chen D, Nafissi N, Calderon D, Narsineni L, Rafiee A. Non-viral gene therapy: Gains and challenges of non-invasive administration methods. *J Control Release.* 2016;240:165-90.
18. Misra S. Human gene therapy: a brief overview of the genetic revolution. *J Assoc Physicians India.* 2016;61(2):127-33.
19. Walther W, Stein U. Viral vector for gene transfer: a review of their use in the treatment of human disease. *Drugs.* 2000;60(2):249-71.
20. Rochat T, Morris M. Viral vector for gene therapy. *J Aerosol Med.* 2002;15(2):229-35.
21. Baum C, Düllmann J, Li Z, Fehse B, Meyer J, Williams D, von Kalle C. Side effects of retroviral gene transfer into hematopoietic stem cells. *Blood.* 2003;101(6):2099-114.
22. Durai S, Mani M, Kandavelou K, Wu J, Porteus MH, Chandrasegaran S. Zinc finger nucleases: custom-designed molecular scissors for genome engineering of plant and mammalian cells. *Nucleic Acids Res.* 2005;33(18):5978-90.
23. Gasper H, Thrasher A. Gene therapy for severe combined immunodeficiencies. *Expert Opin Biol Ther.* 2005;9:1175-82.
24. Vorburger S, Hunt K. Adenoviral gene therapy. *Oncologist.* 2002;7(1):46-59.
25. Peng Z. Current status of gene therapy in China: recombinant human Ad-P53 agent for treatment of cancers. *Hum Gene Ther.* 2005;16(9):1016-27.
26. Sibbald B. Death but one unintended consequence of gene therapy trial. *CMAJ.* 2001;164(11):1612.
27. Varghese S, Robkin D. Oncolytic herpes simplex virus vector for cancer virotherapy. *Cancer Gene Ther.* 2002;9(12):967-78.
28. Gupta P, Huckfeldt R. Gene therapy for inherited retinal degenerations: initial successes and future challenges. *J Neural Eng.* 2017;14(5):051002.
29. Chacón-Camacho O, Astorga-Carballo A, Zenteno J. Terapia génica para enfermedades hereditarias oftalmológicas: avances y perspectivas. *Gac Med Mex.* 2015;151(4):501-11.
30. Bainbridge J, Mistry AR, Thrasher A, Ali R. Gene therapy for ocular angiogenesis. *Clin Sci (Lond).* 2003;104(6):561-75.
31. Campochiaro P. Gene transfer for ocular neovascularization and macular edema. *Gene Ther.* 2012;19(2):121-6.
32. Stieger K, Lorenz B. Gene therapy for vision loss—recent developments. *Discov Med.* 2010;10(54):425-33.
33. Roosing S, Thiadens A, Hoyng C, Klaver C, den Hollander A, Cremers F. Causes and consequences of inherited cone disorders. *Prog Retin Eye Res.* 2014;42:1-26.
34. Feuer W, Schiffman JC, Davis JL, Porciatti V, Gonzalez P, Koilkonda R, et al. Gene therapy for leber hereditary optic neuropathy. *Ophthalmology.* 2016;123(3):558-70.
35. Cwerman-Thibault H, Augustin S, Ellouze S, Sahel JA, Corral-Debrinski M. Gene therapy for mitochondrial diseases: Leber Hereditary Optic Neuropathy as the first candidate for a clinical trial. *C R Biol.* 2014;337(3):193-206.

36. Borrás T. The pathway from genes to gene therapy in glaucoma: a review of possibilities for using genes as glaucoma drugs. *Asia Pacific J Ophthalmol* (Phila). 2017;6(1):80-93.
37. Borrás T, Buie L, Spiga M. Inducible scAAV2.GRE. MMP1 lowers IOP long-term in a large animal model for steroid-induced glaucoma gene therapy. *Gene Ther*. 2016;23(5):438-49.
38. Wilson A, Di Polo A. Gene therapy for retinal ganglion cell neuroprotection in glaucoma. *Gene Ther*. 2012;19(2):127-36.
39. Alqawlaq S, Huzil J, Ivanova M, Foldvari M. Challenges in neuroprotective nanomedicine development: progress towards noninvasive gene therapy of glaucoma. *Nanomedicine*. 2012;7(7):1067-8.
40. Hickmott J, Chen C, Arenillas D, Korecki A, Lam S, Molday L, et al. PAX6 MiniPromoters drive restricted expression from rAAV in the adult mouse retina. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2016;3:16051.
41. Wang X, Gregory-Evans K, Wasan K, Sivak O, Shan X, Gregory-Evans C. Efficacy of postnatal in vivo nonsense suppression therapy in a PAX6 mouse model of aniridia. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2017;16(7):417-28.
42. Lee H, Colby K. A review of the clinical and genetic aspects of aniridia. *Semin Ophthalmol*. 2013;28(5-6):306-12.
43. Danda R, Krishnan G, Ganapathy K, Krishnan U, Vikas K, Elchuri S, et al. Targeted expression of suicide gene by tissue-specific promoter and microRNA regulation for cancer gene therapy. *PLoS One*. 2013;8(12):e83398.
44. Indovina P, Pentimalli F, Casini N, Vocca I, Giordano A. RB1 dual role in proliferation and apoptosis: cell fate control and implications for cancer therapy. *Oncotarget*. 2015;6(20):17873-90.
45. Mohan R, Tovey J, Sharma A, Tandon A. Gene therapy in the cornea: 2005–present. *Prog Retin Eye Res*. 2012;31(1):43-64.
46. Liu MM, Tuo J, Chan CC. Gene therapy for ocular diseases. *Br J Ophthalmol*. 2011;95(5):604-12.
47. Ryan SJ. *Retina*. 4a. ed. Fam P, editor. Philadelphia: Elsevier; 2006.
48. Auricchio A, Trapani I, Allikmets R. Gene therapy of ABCA4-Associated Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5(5):a017301.
49. Han Z, Conley S, Naash M. Gene therapy for star-gardt disease associated with ABCA4 gene. *Adv Exp Med Biol*. 2014;801:719-24.
50. Chacón-Camacho OF, Zenteno JC. Terapia génica para la restauración de la visión en pacientes con amaurosis congénita de Leber (LCA) por mutación en el gen RPE65: el inicio de la fase IV. *Gac Med Mex*. 2017;153:276-8.
51. Mena-Enriquez M, Flores-Contreras L, Armendáriz-Borunda J. Vectores virales adeno-asociados: métodos de producción, purificación y aplicaciones en terapia génica. *Rev Invest Clin*;64(5):487-94.
52. Weleber R, Pennesi M, Wilson D, Kaushal S, Erker L, Jensen L, et al. Results at 2 years after gene therapy for RPE65-deficient leber congenital amaurosis and severe early-childhood-onset retinal dystrophy. *Ophthalmology*. 2106;123(7):1606-1620.
53. Askou A. Development of gene therapy for treatment of age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol*. 2014;92(Thesis3):1-38.
54. Azam M, Collin R, Shah S, Shah A, Khan M, Hussain A, et al. Novel CNGA3 mutations in Chinese patients with achromatopsia. *Mol Vis*. 2010;29(16):774-81.
55. Carvalho L, Xu J, Pearson R, Smith A, Bainbridge J, Morris L, et al. Long-term and age-dependent restoration of visual function in a mouse model of CNGB3-associated achromatopsia following gene therapy. *Hum Mol Genet*. 2011;20(16):3161-75.
56. Banin E, Gootwine E, Obolensky A, Ezra-Elia R, Ejzenberg A, Zelinger L, et al. Gene augmentation therapy restores retinal function and visual behavior in a sheep model of CNGA3 achromatopsia. *Mol Ther*. 2015;23(9):1423-33.
57. Lhéríteau E, Petit L, Weber M, Le Meur G, Deschamps J, Libeau L, et al. Successful gene therapy in the RPGRIP1-deficient dog: a large model of cone-rod dystrophy. *Mol Ther*. 2014;22(2):265-77.
58. Wu Z, Hiriyanna S, Qian H, Mookherjee S, Campos M, Gao C, et al. A long-term efficacy study of gene replacement therapy for RPGR-associated retinal degeneration. *Hum Molecular Genet*. 2015;24(14):3956-70.
59. Yang T, Justus S, Li Y, Tsang S. BEST1: the best target for gene and cell therapies. *Mol Ther*. 2015;23(12):1805-9.

