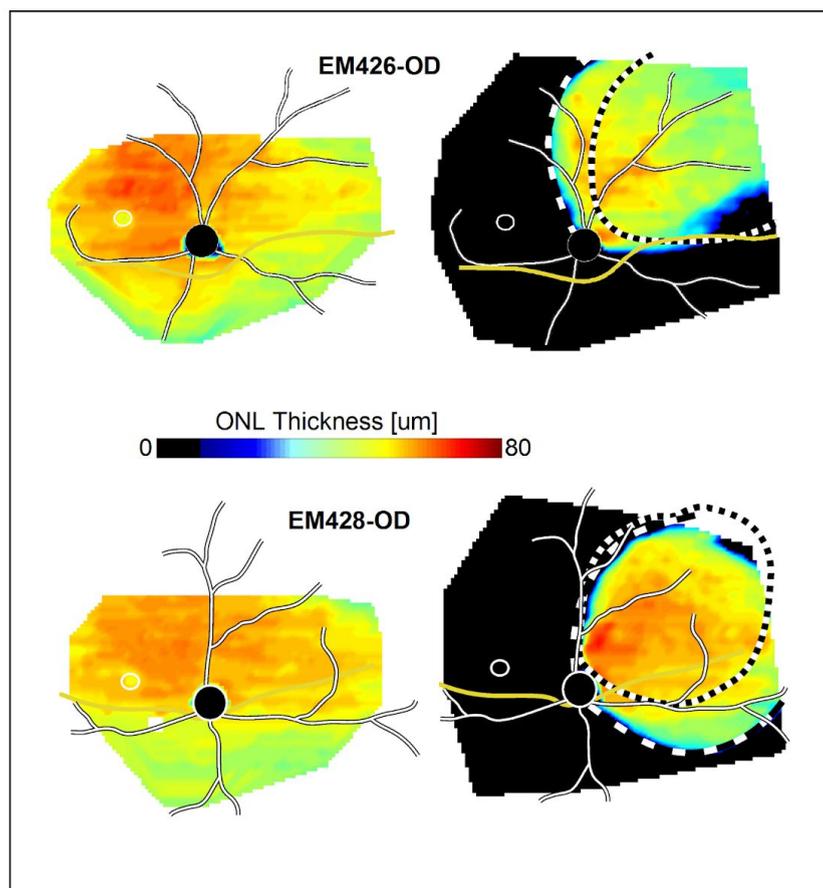


# Derribar y reemplazar: un twofer de terapia génica para tratar la ceguera

Un equipo de la Escuela de Medicina Veterinaria y la Escuela de Medicina Perelman usó un único vector de dos características para preservar las células sensibles a la luz que normalmente se destruyen en la condición de retinitis pigmentosa.



El año pasado se registraron hitos en el campo de la terapia génica, con aprobaciones de la FDA para tratar el cáncer y un trastorno cegador hereditario. Los nuevos hallazgos de un equipo liderado por científicos de la visión [de la Universidad de Pensilvania](#), que han llevado terapias genéticas a ensayos clínicos en el pasado, están resultando exitosos, esta vez tratando una forma de retinitis pigmentosa, una enfermedad que le roba progresivamente a las personas su visión nocturna y periférica Antes de que se desarrolle la ceguera.

Los investigadores, de Penn [Facultad de Medicina Veterinaria](#) y [la Escuela de Medicina de Perelman](#) , en colaboración con la [Universidad de Florida](#) científicos, desarrollaron una terapia que elimina eficazmente la copia anormal de la rodopsina, una molécula sensible a la luz, y luego se restaura con una copia sana la proteína Este enfoque de eliminación y reemplazo preservó las células fotorreceptoras de la luz de la retina en los perros afectados, que pueden desarrollar una enfermedad muy similar a la de los humanos afectados.

Además, lograron esto utilizando un solo vector viral para co-entregar el material genético necesario para lograr tanto la eliminación como el reemplazo. Aunque se han identificado más de 150 mutaciones diferentes en la rodopsina como causantes de retinitis pigmentosa, se pretende que este enfoque funcione independientemente de la mutación o el mecanismo por el cual mueren las células fotorreceptoras de varilla, las responsables de la visión con luz tenue. Eso significa que un gran porcentaje de pacientes con retinitis pigmentosa autosómica dominante de rodopsina podría beneficiarse si se encuentra que la terapia es segura y eficaz en las personas.



William Beltran, Artur Cideciyan, Gustavo Aguirre y Samuel Jacobson formaron parte del equipo conjunto de Penn Vet y Penn Medicine que dirigió el trabajo.

"Es un 'tratamiento único para todos'", dice [William A. Beltran](#) , profesor de oftalmología y director de la División de Terapias Retinales Experimentales en Penn Vet, y co-autor principal del estudio, que aparece en las [Actas de la](#) semana [de Academia Nacional de Ciencias](#) . "El tratamiento se dirige a una región del gen de la rodopsina que es homóloga en humanos y perros, y está separada de donde se encuentran las mutaciones. Eso nos da una gran esperanza de hacer de esto un tratamiento traslacional ".

"Hemos sabido durante décadas que esta molécula específica causa una forma específica de retinitis pigmentosa, pero el desarrollo de un tratamiento no ha sido sencillo", dice [Artur V. Cideciyan](#), profesor de investigación de oftalmología en Penn Medicine y co-autor principal. "Ahora, con estos resultados elegantes basados en años de estudio en perros, podemos comenzar a trabajar para tratar estas mutaciones y prevenir el deterioro de las células fotorreceptoras en los seres humanos".

El trabajo es el último resultado en una asociación de larga data entre los científicos de la visión de Penn. Además de Beltrán y Cideciyan, el equipo incluyó a Raghavi Sudharsan de Penn Vet, un investigador asociado en el laboratorio de Beltrán, y [Gustavo D. Aguirre](#), profesor de genética médica y oftalmología, y [Samuel G. Jacobson de](#) Penn Medicine, profesor de oftalmología y director de El Centro de Degeneraciones Retinales Hereditarias.

La retinitis pigmentosa se refiere a un conjunto de trastornos retinales hereditarios progresivos. Hace tres décadas, los investigadores identificaron mutaciones en el gen que codifica la rodopsina como la primera causa genética conocida de la enfermedad. Desde entonces, también se han implicado otros genes, pero las mutaciones de la rodopsina siguen siendo un factor importante, ya que representan hasta el 30 por ciento de la retinosis pigmentaria autosómica dominante.

La gran mayoría de las mutaciones de rodopsina se transmiten a través de las familias de manera dominante, lo que significa que un padre solo necesita pasar una copia mutada para que su hijo se vea afectado.

"En nuestras investigaciones, hemos visto personas en la década de 1990 con este tipo genético de retinitis pigmentosa y ahora estamos viendo a sus nietos también afectados", dice Jacobson. "Es una enfermedad multigeneracional, y es una enfermedad grave".



Raghavi Sudharsan, investigador asociado en Penn Vet

Varias mutaciones de la rodopsina que conducen a la retinitis pigmentosa dan como resultado lo que se conoce como una ganancia de función tóxica, que se cree produce una proteína que es perjudicial para las células fotorreceptoras. Para abordar los problemas que surgen en estos pacientes, los investigadores han determinado que la mejor estrategia es eliminar la proteína mutante.

"En el pasado, hemos desarrollado terapias genéticas para otras afecciones en las que la mutación provoca una pérdida de la función", dice Aguirre, "por lo que en estos casos, solo necesitamos volver a agregar la copia normal del gen para que los fotorreceptores puedan Recupera su estructura y función normal. "Cuando tienes una enfermedad dominante como esta, donde el producto genético es realmente dañino para la célula, debes deshacerte de ella".

Los esfuerzos anteriores del equipo habían intentado hacer precisamente eso: simplemente derribar tanto la mutina como la rodopsina normal en los perros. Esto previno la enfermedad

pero causó una pérdida del compartimiento celular clave de los fotorreceptores de barra, el segmento externo, que inicia la visión. Beltran y sus colegas determinaron que agregar una copia sana sería la mejor y la estrategia necesaria para lograr que las células retinales funcionen de manera saludable.

En el trabajo actual, los investigadores emplearon esta estrategia, que se basó en ensayos in vitro y, significativamente, en un modelo animal canino con una mutación natural en el gen de la rodopsina que recapitula fielmente la forma de retinitis pigmentosa humana causada por mutaciones de rodopsina de clase B. Mientras que los pacientes con mutaciones de clase A en rodopsina pierden las células fotorreceptoras de varilla en funcionamiento en una etapa temprana de la vida, aquellos con mutaciones de clase B pueden retener sus células de varilla durante décadas, lo que los hace candidatos para una terapia génica que preserva la visión.

Debido a que los perros rodopsina mutantes son muy sensibles a la luz ambiental, se utilizó una exposición corta equivalente a la luminancia del mediodía para acelerar la degeneración de los fotorreceptores. Esta sensibilidad permitió a los investigadores controlar qué áreas de la retina fueron las más afectadas y cuándo, y así evaluar el éxito del tratamiento en cuestión de semanas en lugar de los años que tomaría desarrollar una degeneración sin este desencadenante.

En el laboratorio, el equipo confirmó que podrían alterar el gen de la rodopsina mutante utilizando un reactivo de eliminación llamado ARN de horquilla corta (shRNA), diseñado por Alfred Lewin y sus colegas de la Universidad de Florida, para dirigirse a un área lejos de las secciones mutadas de el gen Agregar una copia sana del gen de la rodopsina que es resistente a este shRNA compensado por la caída.

En perros con la mutación de la rodopsina, utilizaron la misma estrategia, encontrando el mejor éxito cuando el shRNA y la copia sana de la rodopsina se administraron conjuntamente en el mismo vector, en lugar de usar dos vectores diferentes. El equipo restauró aproximadamente el 30 por ciento del nivel normal de rodopsina, lo suficiente para prevenir el deterioro de las células de la varilla en la retina.

"Lo que demostramos fue que si acabas de derribar solo, preservas la capa nuclear exterior de barras, que es donde se ubican los cuerpos de las células", dice Beltrán. "Pero sin otra capa crítica, los segmentos externos, donde la rodopsina desempeña el papel esencial de capturar la luz e iniciar la visión, las barras se vuelven inútiles. Sin embargo, si combina la caída con los reactivos de reemplazo, entonces la diferencia drástica es que ahora tiene segmentos externos perfectamente formados y alineados y células fotorreceptoras funcionales".

Los investigadores pudieron confirmar los efectos beneficiosos tanto en la estructura como en la función de las células de la varilla (así como en los conos, responsables de la visión del color) mediante el uso de técnicas de imagen especializadas que se pueden usar en pacientes humanos, junto con la electroretinografía, que proporciona una medida de Función caña y cono.

"Pudimos salvar la visión de cono en los perros", dice Lewin de Florida. "Si podemos hacer eso en las personas, se salvará la visión central que les permite reconocer rostros, leer y ver televisión".

Hasta ahora, el seguimiento del efecto del tratamiento más de ocho meses después de la administración de la terapia génica, el efecto parece estable y duradero. El equipo de investigación está trabajando actualmente para trasladar los hallazgos a los ensayos clínicos.

"El trabajo actual tiene fuertes implicaciones para el tratamiento de pacientes con retinosis pigmentaria autosómica dominante debido a mutaciones de rodopsina de Clase B", dice Cideciyan.

Los autores adicionales en el estudio fueron Valérie Dufour de Penn Vet, Simone Iwabe, Luis Felipe Marinho y Tatyana Appelbaum; Malgorzata Swider de Penn Medicine, Brianna Lisi y Alexander Sumaroka; y Michael Massengill, de la Universidad de Florida, y Brian Rossmiller.

La investigación fue apoyada por el National Eye Institute (subvenciones EY022012, EY06855, EY001583 y EY021721), Foundation Fighting Blindness, Research to Prevent Blindness y Shaler Richardson Professorship Endowment.