

# La terapia génica en la Enfermedad de Huntington: una visión global

Serrano Buendía, Nuria. Grado en Ciencias Biomédicas. Universitat Autònoma de Barcelona

## 1. Introducción

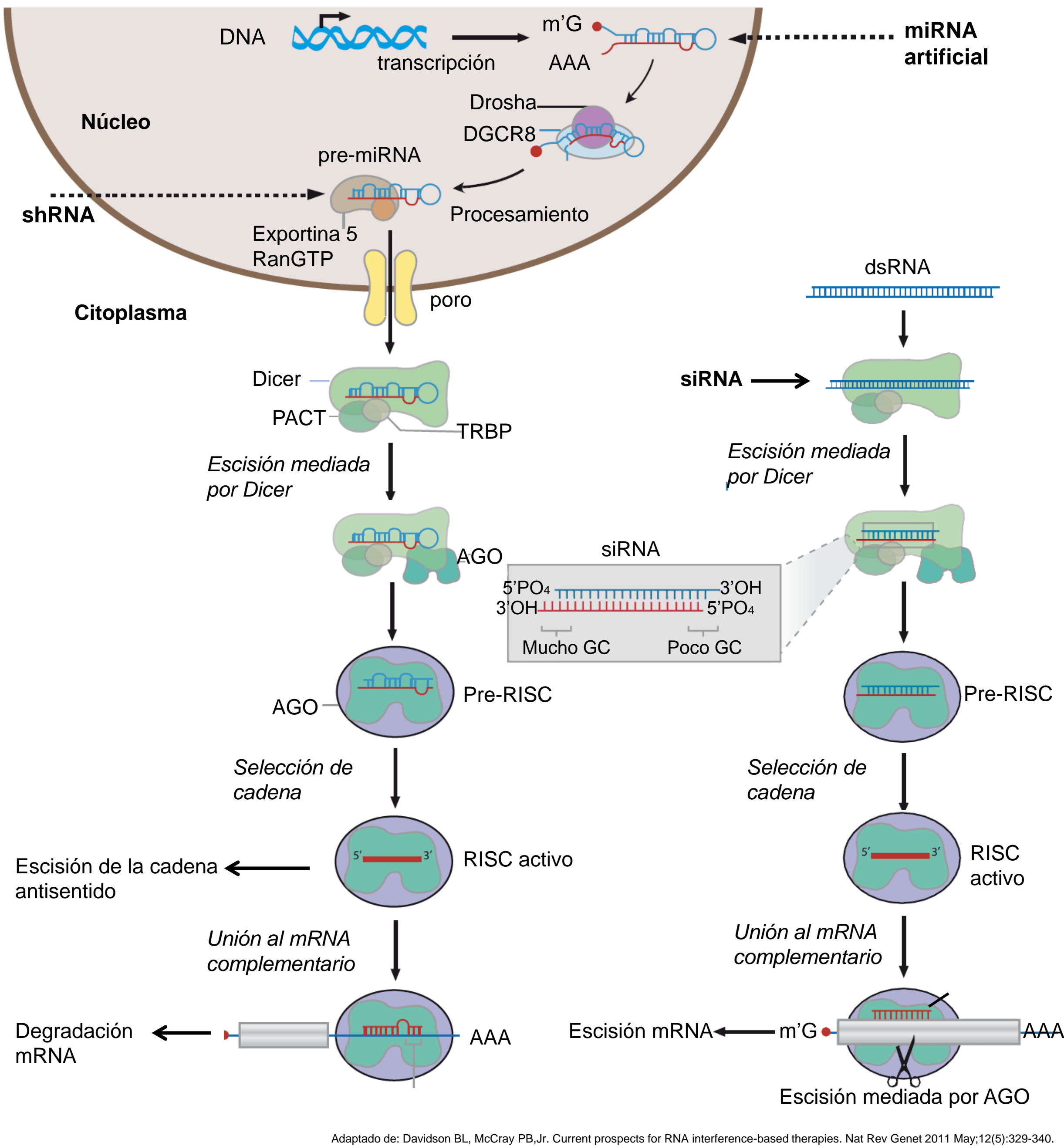
La Enfermedad de Huntington es una patología neurodegenerativa hereditaria autosómica dominante. El gen que codifica para la proteína huntingtina se encuentra mutado con una expansión del triplete de nucleótidos CAG. Esto desregula su función en neuronas de diferentes regiones del Sistema Nervioso Central, que mueren originando la sintomatología característica: corea, debilidad, demencia y trastornos de comportamiento. La terapia génica es una importante vía en la búsqueda de un posible tratamiento de la enfermedad. Consiste en la introducción de diferentes constructos génicos a nivel celular para inhibir la transcripción o traducción de la proteína mutada, incluso se puede restituir su función normal sustituyendo el gen defectuoso por uno nuevo. En la actualidad la mayoría de ensayos se encuentran en fase pre-clínica pero con notables resultados positivos.

## 2. Objetivo y metodología

**Objetivo:** realizar una revisión bibliográfica para aprender cuál es el estado actual de las terapias con RNA de interferencia (RNAi), ASOs (*antisense oligonucleotides*) y Zinc Finger Nucleasas (ZFN) en modelos animales de la enfermedad de Huntington.

**Metodología:** búsqueda bibliográfica en *PubMed* y webs de divulgación científica, selección de los artículos recientes del grupo de la Dra. Davidson y colaboradores, los más activos en la investigación en el campo. *Palabras clave:* terapia génica, Enfermedad de Huntington, RNA de interferencia, short hairpin RNA, small interference RNA, ASOs, ZFN.

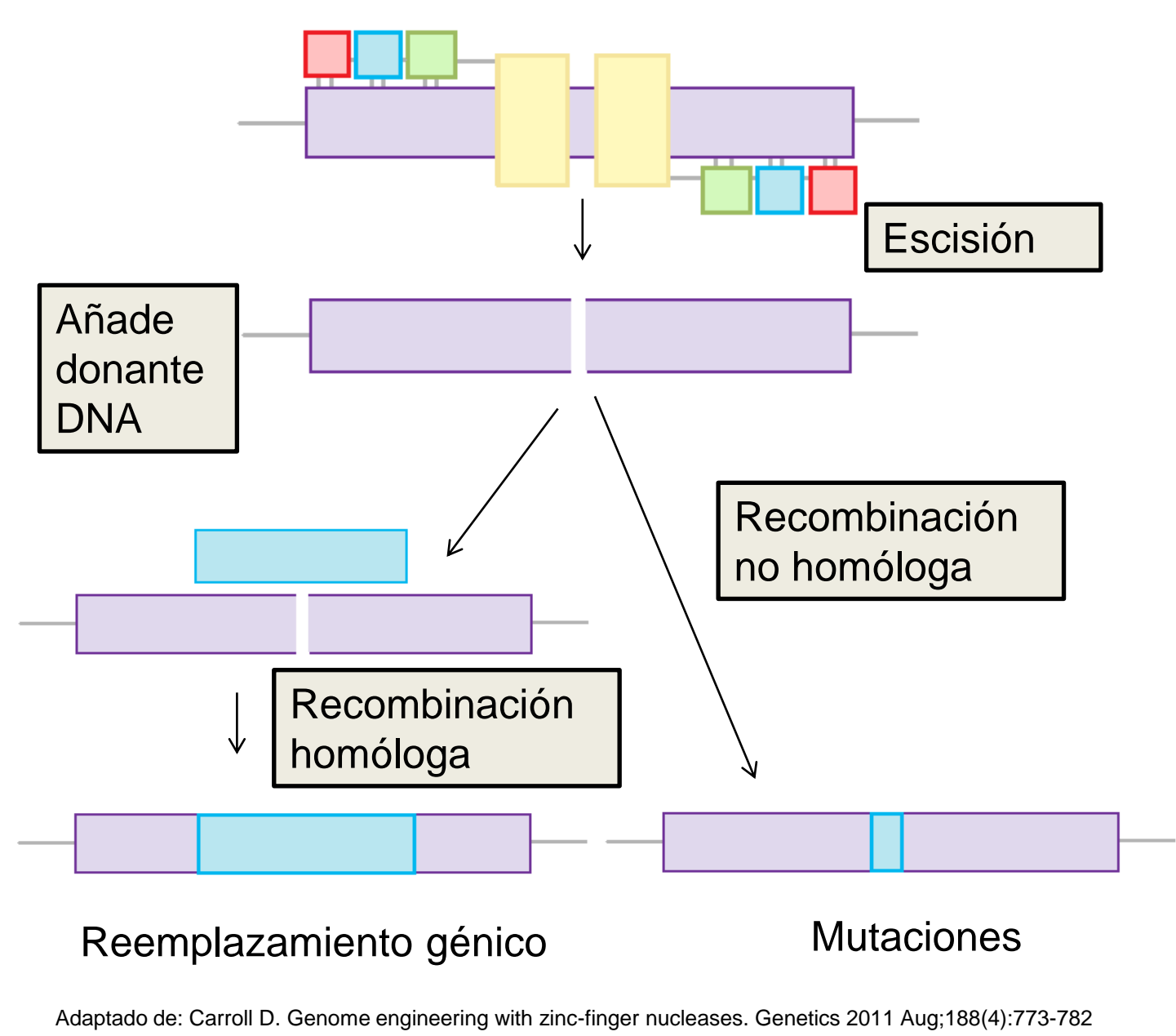
## 3. RNAi



Existen diferentes tipos de RNAi que en su acción utilizan las vías endógenas de inhibición presentadas en la imagen. El shRNA (*short hairpin RNA*) se introduce a nivel nuclear imitando al pre-miRNA (*pre-micro RNA*) en donde diversos complejos proteicos lo transportan y transforman para que pueda unirse al mRNA (mensajero), degradándolo. Por otro lado los siRNAs (*small interference RNA*) mucho más pequeños, actúan en la vía de inhibición del dsRNA (*double stranded RNA*) endógeno usando los mismos complejos proteicos para silenciar el mRNA de interés. Los ASOs (*antisense oligonucleotides*) que no se muestran en la imagen, son nucleótidos de unas 20pb, los más pequeños usados en terapia, que pueden actuar sobre el mRNA a nivel nuclear o citosólico para degradarlo o inhibir la traducción mediando otras vías.

## 4. ZFN

Se trata de dímeros proteicos en forma de *zinc finger* acoplados a endonucleasas con especificidad para una secuencia de DNA al que se unen para cortarlo. Existe riesgo de mutagénesis si el DNA se reconstituye de forma no homóloga. Se puede insertar en cambio, un constructo para sustituir el gen.



## 5. Tabla comparativa: el uso en la terapia pre-clínica

	RNAi			ZFN
	shRNA	siRNA	ASOs	
<b>Vector de introducción al SNC</b>	-Plásmidos, -AAV2 -AAV5	-AAV2	-Desnudos endocitosis directa, electroporación, microinyección -Dentro de micropartículas cationes lipídicos	-AAV2
<b>Método de inyección</b>	-Inyección intraparenquimal a estriado	-Inyección intraparenquimal a estriado	-Inyección intraparenquimal a estriado -Catéter a líquido cefalorraquídeo	-Inyección intraparenquimal a estriado
<b>Mecanismo activación</b>	Vía endógena del miRNA	Vía endógena del dsRNA	Vía de la RNasa-H	Factor de transcripción + endonucleasa FokI: corte del DNA
<b>Eficacia (in vivo)</b>	60-70% reducción mRNA mutante 4 meses con inyección única	60% reducción mRNA mutante 3 semanas con inyección única	70% reducción mRNA mutante 4 meses con inyecciones durante dos semanas	60% reducción mRNA mutante inyección única + restauración función normal de la proteína
<b>Mejora fenotípica</b>	X	X	XX	X
<b>Toxicidad</b>	-Saturación de la vía endógena de interferencia - off target	-off target	-No se han observado	-off target
<b>Análisis pre-clínicos con buenos resultados</b>	SI: sh2.1 sh2.4	SI: HDS1 HDS2	SI: HuASOs (human-selective ASO)	SI: ZFxHunt
<b>Otros</b>	Larga expresión celular	-Corta expresión celular -Menor off target	- Más especificidad y estabilidad -Alcance numerosas zonas cerebrales: mejora de más síntomas	- Especificidad de alelo

## 6. Conclusiones

Esta revisión bibliográfica ha permitido a los autores profundizar en el estado actual de la terapia génica que se está llevando a cabo para la Enfermedad de Huntington. Se ha comprendido que las tecnologías vistas son útiles en el silenciamiento génico y en la reversión parcial del fenotipo en modelos animales pero que, en cambio, todas presentan limitaciones que hacen difícil su uso y todavía más la optimización para los futuros ensayos clínicos. Del estudio se concluye que los próximos esfuerzos se basarán en la mejora de estas técnicas, para encontrar nuevos enfoques tales como métodos seguros de administración a humanos o terapias dirigidas a SNPs.