

NUEVA APROXIMACIÓN A LA TERAPIA GÉNICA DE LA ANEMIA DE FANCONI UTILIZANDO VECTORES GAMMA-RETROVIRALES

Jacome A¹, Navarro S¹, Casado JA¹, Rio P¹, Madero L¹, Estella J¹, Sevilla J¹, Badell¹, Ortega JJ¹, Olivé T¹, Hanenberg H², Segovia JC¹, Bueren JA¹. Red Nacional de Investigación en Anemia de Fanconi. ²Children's Hospital, Heinrich Heine University. Düsseldorf, Germany.

Estudios previos han mostrado que la estimulación *ex vivo* prolongada de la médula ósea de ratones con Anemia de Fanconi (AF) induce apoptosis y promueve la transformación de las células progenitoras.

En base a estos resultados nuestro objetivo fue mejorar la seguridad y eficacia de una aproximación de terapia génica de la AF con vectores gamma-retrovirales.

En una primera fase del estudio observamos el porcentaje de células CD34⁺ en la médula ósea de los pacientes era de 0,4%, lo que representa un 25% de los valores observados en individuo sano.

El número medio de Unidades Formadoras de Colonias (CFUs) en estas muestras fue de 13 CFUs/10⁵ células, lo que representa únicamente el 10% de los valores normales. Debido al bajo número de células progenitoras en estas muestras postulamos que los precursores deberían presentarse en un estadio proliferativo activo, susceptibles de transducirse directamente por vectores gamma-retrovirales.

Con objeto de minimizar la pérdida de células madre asociada a un proceso de selección de células CD34, utilizamos células mononucleares totales como diana celular a de los vectores retrovirales.

Así, células mononucleadas de médula ósea fueron transducidas con vectores que codifican la proteína verde fluorescente (EGFP) por periodos de 12h a 72h.

Una vez transcurrido el periodo de transducción, las células se cultivaron en medio semisólido para determinar el número de progenitores y el porcentaje de colonias EGFP⁺.

Se observó que una sencilla manipulación de la médula ósea *in vitro* de 24h fue suficiente para transducir hasta el 43% de los progenitores de pacientes pertenecientes al subgrupo FA-A.

A diferencia de lo que ocurría con la médula ósea de los pacientes FA, el mismo protocolo transdujo una mínima proporción de progenitores provenientes de médula ósea de individuos sanos (<7%). Para investigar si este protocolo de transducción podía revertir la característica hipersensibilidad de los progenitores FA-A a la Mitomicina C (MMC) se utilizaron vectores portadores del gen terapéutico FA-A.



Tercer Simposium Nacional sobre Anemia de Fanconi.

Isla de La Palma 18 y 19 de noviembre 2.005.

Transduciendo medula ósea fresca con dos diferentes vectores portadores del gen *FANCA* (SFA y LFAPEG) se mejoró de forma muy significativa la supervivencia de los progenitores.

Se concluye que, en el caso de los pacientes con Anemia de Fanconi, la pre-estimulación de la medula ósea no es necesaria cuando se pretende corregir el fenotipo de los progenitores con vectores gamma retrovirales.

Esto sugiere que la transducción bajo condiciones mínimas de manipulación puede mejorar la eficacia y seguridad de los protocolos de terapia génica para pacientes con Anemia de Fanconi.