



## **ASIGNATURA: TERAPIA GÉNICA**

### **JUSTIFICACIÓN DE LA ASIGNATURA**

El conocimiento de las alteraciones moleculares que modifican el fenotipo o regulación celular y que están asociadas a una enfermedad ha impulsado la investigación de nuevas estrategias terapéuticas. La transferencia de secuencias de ADN codificantes tiene utilidad general para sustituir la administración de una proteína con valor terapéutico, al conseguir la generación *in situ* de la proteína de forma prolongada, regulada y específica. También se pueden administrar moléculas de ADN o de ARN para bloquear la expresión de una proteína que es causa de una patología (tecnología antisentido). Por ello, es necesario definir protocolos de administración y vehículos (vectores génicos) para introducir de forma eficiente, específica e inócua los ácidos nucleicos en células de tejidos y en la dosis apropiada. Por otra parte, la identificación de las células con fenotipos deficientes y su reemplazo por la administración de células funcionales es la base de la terapia celular regenerativa. Estas estrategias terapéuticas están fundamentalmente en fase de desarrollo y son uno de los campos de investigación biomédica más activos en la actualidad.

### **OBJETIVOS**

El alumno deberá adquirir los siguientes conocimientos:

1. Naturaleza, origen y características de las moléculas de ácidos nucleicos utilizadas en terapia génica
2. Factores limitantes en la administración de genes y en el ajuste al rango terapéutico
3. Aplicabilidad de la terapia génica
4. Biología de las células madre (stem cells)
5. Bases metodológicas y aplicaciones terapéuticas en medicina regenerativa

### **CONTENIDOS Y TEMARIO**

#### **CLASES TEÓRICAS MAGISTRALES**

#### **PARTE 1: TERAPIA GÉNICA**

##### **Bloque 1: Conceptos básicos**

**Tema 1. Introducción a la terapia génica.** Transferencia de secuencias codificantes. Transferencia de secuencias inhibitoras de la expresión. Reparación génica. Aplicabilidad.

**Tema 2. Etapas limitantes en la transferencia de genes a células aisladas.** Mecanismos de entrada a la célula. Transporte al núcleo. Transferencia transitoria y estable. Integración y replicación episomal.

##### **Bloque 2: Moléculas de ácidos nucleicos de uso terapéutico**

**Tema 3. Definición y características de las unidades transcripcionales.** Estructura del transgen. Secuencias reguladoras de la transcripción: de especificidad tisular, de especificidad tumoral, sistemas de inducción on/off o otros modulables. Señales de poliadenilación. Construcciones multicistrónicas y IRES. Aisladores de la unidad transcripcional. DNA plasmídico. DNA inserido a genomas víricos. Cromosomas artificiales.

**Tema 4. Moléculas inhibitoras de la expresión.** RNA antisentido. Ribozimas. DNazimas. Pequeños RNA de interferencia (sRNAi). Oligonucleótidos antisentido y tripletes (TFOs).

### **Bloque 3: Técnicas de transferencia y vectores**

**Tema 5. Vectores no víricos.** Liposomas. Electroporación. Polications. Proteínas ligadas de receptores celulares. Péptidos translocantes. Pistolas de DNA. Nanopartículas.

**Tema 6. Vectores víricos.** Retrovirus. Adenovirus. Virus adenoasociados. Virus Herpes. Otros virus. Virus híbridos.

### **Bloque 4: Aspectos farmacológicos de la terapia con ácidos nucleicos**

**Tema 7. Administración y distribución *in vivo*.** Vías de administración *in vivo*. Estudio farmacocinético de la distribución en los tejidos de macromoléculas. Barreras anatómicas. Interacción con moléculas plasmáticas. Respuesta inmune.

**Tema 8. Factores que modulan la efectividad de la transferencia génica y la concentración de las proteínas generadas *in situ* por transcripción.** Dosificación del gen y actividad de la unidad transcripcional. Estabilidad del gen. Secreción constitutiva y regulable de la proteína extracelular generada.

**Tema 9. Recombinación homóloga y reparación génica.** Quimeroplastias.

### **Bloque 5: Aplicaciones**

**Tema 10. Aplicación de la terapia génica al tratamiento del cáncer.**

**Tema 11. Terapia génica en células de la médula ósea.**

**Tema 12. Terapia génica de la fibrosis quística.**

**Tema 13. Vacunas de DNA.**

## **PARTE 2: CÉLULAS MADRE Y MEDICINA REGENERATIVA**

### **Bloque 1: Conceptos básicos de desarrollo embrionario y regeneración celular.**

**Tema 1. Conceptos básicos del desarrollo inicial de los mamíferos.** Ela fisuración en los als mamíferos. Compactación. La masa celular interna *versus* trofoblasto. Origen de las células embrionarias.

**Tema 2. Genética y Biología molecular de la regeneración.** Modelos para el estudio de la regeneración celular. Regeneración epimórfica y morfoláctica. Regeneración compensatoria. ¿Se utilizan los mismos genes en el desarrollo que en la regeneración?.

**Tema 3. Memoria celular.** Concepto de pluripotencia. Remodelación de la cromatina por los gens PcG y los TrxG en el mantenimiento del estado de derminación celular. Transdeterminación i Metaplasia.

**Tema 4. Células madre y clonage.** Pruebas de la equivalencia genómica. Clonage reproductor. Células madre embrionaries y clonage terapéutico. Células madre adultas. Células madre transgénicas.

### **Bloque 2: Bases metodológicas**

**Tema 5. Técnicas de aislamiento, expansión y cultivo de células madre.** Obtención de células madre pluripotentes embrionarias. Obtención de células madre pluripotentse en el adulto: algunos ejemplos prácticos; células hematopoéticas, Células madre de médula ósea, Células neurales pluripotentes y progenitores neuronales, Células pluripotentes del cordón umbilical.

**Tema 6. Inducción y diferenciación fenotípica de las células madre pluripotentes.** Diferenciación endodérmica. Hepatocitos y células beta pancreáticas. Diferenciación ectodérmica. Células neurales y gliales. Diferenciación mesodérmica. Células hematopoéticas y células musculares.

Bioreactores celulares y expansión de células madre para aplicaciones terapéuticas.

### **Bloque 3: Aplicaciones terapéuticas básicas en medicina regenerativa**

**Tema 7: Limitaciones en el uso de la terapia regenerativa con células madre.** Limitaciones biológicas: desdiferenciación celular y proliferación celular, supervivencia celular, respuesta inmune, migración celular. Aspectoes éticos en medicina regenerativa con células madre.

**Tema 8. Aplicaciones de las células madre en medicina regenerativa cardíaca.** Introducción a los factores moleculares implicados en la cardiogénesis. Tipos celulares empleados en cardioplastia. Potencial terapéutico de las células madre en enfermedades cardíacas. Limitaciones actuales y aplicaciones futuras.

**Tema 9. Aplicaciones de las células madre en la diabetes.** Trasplante celular en la terapia de la diabetes. Potencial terapéutico de las células madre en el tratamiento de la diabetes. Limitaciones actuales y aplicaciones futuras.

**Tema 10. Aplicaciones de las células madre en neurodegeneración.** Factores moleculares implicados en la diferenciación de células madre neurales. Reparación y recuperación funcional del sistema nervioso en enfermedades neurodegenerativas. Limitaciones actuales y aplicaciones futuras.

**Tema 11. Aplicaciones de las células madre en la regeneración axonal.** Factores implicados en la ausencia de regeneración axonal en el sistema nervioso central. Terapia celular regenerativa en lesiones traumáticas del sistema nervioso central. Limitaciones y aplicaciones futuras.

## **SEMINARIOS**

- Regulación administrativa para la aprobación del uso de fármacos.
- Terapia génica de las enfermedades del genoma mitocondrial
- Otros temas a determinar

## **METODOLOGÍA Y ORGANIZACIÓN DE LA ASIGNATURA**

### **Enseñanza presencial**

La enseñanza presencial comprenderá las clases teóricas, magistrales y seminarios. Las clases teóricas se impartirán utilizando las herramientas adecuadas para el seguimiento de la explicación como las presentaciones en soporte electrónico (por Ej. Power Point), los vídeos, las colecciones de imágenes, etc. Las presentaciones serán publicadas en el dossier de la asignatura con anterioridad a la sesión, siempre que sea posible.

### **Trabajo no presencial**

- **Tareas a desarrollar:**
  - El aprendizaje de los conceptos que se impartirán en las clases presenciales teóricas.
  - La preparación de la presentación oral de un artículo de investigación original. Los artículos serán propuestos por los coordinadores, alternativamente el alumno podrá escoger un artículo que ha de ser aprobado por el profesor. Las exposiciones se harán en clase y tendrán una duración de entre 20 y 30 minutos. Las presentaciones han de situar el trabajo de investigación en el estado del conocimiento actual, describir y analizar los resultados y las conclusiones de los autores y discutirlos con la participación de la audiencia. Las presentaciones se pueden basar en transparencias o en programas de ordenador como Power Point.
- **Estudio por parte del alumno.** El alumno deberá estudiar el contenido de las clases con ayuda de los materiales que el profesor pondrá a disposición de los alumnos mediante el dossier de la asignatura (presentaciones, etc.) y la bibliografía indicada. El alumno deberá estudiar y hacer búsqueda bibliográfica de los conceptos que forman parte del artículo de investigación que presentará, para situar los antecedentes del tema del artículo y entender el estado de la cuestión.

## **EVALUACIÓN**

### **Criterios de evaluación**

Se evaluarán los conocimientos adquiridos durante el curso, las habilidades del uso, la integración y la presentación de conocimientos y la participación del alumno en las actividades organizadas, seminarios y presentaciones de trabajo.

### **Procedimientos de evaluación**

Para evaluar al alumno, se utilizarán como procedimientos: un examen escrito y la presentación oral de un artículo de investigación. El examen escrito y la presentación oral de un artículo se puntuarán cada uno sobre 10. La calificación de cada una de las pruebas contribuirá un 45% a la nota final. El 10% restante se calificará en función de la asistencia a las clases presenciales.

## **BIBLIOGRAFÍA**

### **Libros:**

- Ingeniería genética y Transferencia génica. Marta Izquierdo Rojo. Editorial Pirámide. 2001.
- Gene Therapeutics. Joan A. Wolff, Editor. Birkhäuser, 1993.
- Gene Therapy. Larrick, J.W., Burck, K.L. Elsevier, 1991
- Gene Transfer and Expression Protocols. E.J. Murray. Humana Press, 1991.
- Essentials of Stem Cell Biology. Robert Lanza (Ed). Academic Press, 2005.
- Viral Vectors for Gene Therapy: Methods and Protocols de Jules G Constant, Curtis A Machida. Humana Press
- Cellular Drug Delivery: Principles and Practice editado por D Robert Lu, Svein Oie. Humana Press
- Gene Silencing by RNA Interference de Laurie Kelly, Muhammad Sohail. CRC Press
- Polymeric Gene Delivery de Mansoor M Amiji. CRC Press
- Pharmaceutical Gene Delivery Systems de Alain Rolland, Sean M Sullivan. Editorial Marcel Dekker
- Developmental Biology. S.E. Gilbert. (7th ed) Ed. Sinauer. 2003.

### **Páginas Web :**

- Human genome project information.  
[http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome/medicine/genetherapy.shtml#status](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/medicine/genetherapy.shtml#status)
- The Journal of Gene Medicine: Gene therapy clinical trials worldwide.  
<http://www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/>
- NIH Stem Cell information web. <http://stemcells.nih.gov/index.asp>