

TERÀPIES AVANÇADES: PRESENT I FUTUR

JORDI BARQUINERO

Institut de Recerca Vall d'Hebron, Barcelona

Adreça per a la correspondència: Jordi Barquineró. Àrea de Teràpia Gènica i Cel·lular, Institut de Recerca Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona. Pg. de la Vall d'Hebron, 119-129. 08035 Barcelona. Tel.: 932 746 726. Adreça electrònica: jordi.barquineró@vhir.org.

RESUM

Les teràpies avançades (TA) representen una sèrie de noves modalitats terapèutiques que inclouen l'ús de cèl·lules substancialment manipulades, la teràpia gènica (TG) i l'enginyeria de teixits, disciplines que han tingut un desenvolupament espectacular en els darrers vint anys, com a conseqüència d'una millor comprensió de les bases moleculars i cel·lulars de moltes malalties, de noves eines per modificar genèticament les cèl·lules (vectors) i dels avenços sobre cèl·lules mare. Les TA tenen àmbits d'aplicació molt diversos, des del càncer o les malalties hereditàries (per exemple, en el cas de la TG), a lesions de l'aparell locomotor, malalties autoimmunitàries, degeneratives o el trasplantament, en el cas de les teràpies cel·lulars (TC) o l'enginyeria de teixits. Tal com passa amb qualsevol tractament, les TA tenen riscos, de vegades molt greus, per la qual cosa és necessari assegurar-se raonablement que els beneficis possibles superin els riscos potencials. D'altra banda, si volem que s'investigui en aquestes noves teràpies i que aquestes arribin aviat als pacients cal evitar un excés de regulació de les agències responsables. Finalment, també cal que els professionals transmetem missatges realistes a la societat per tal d'evitar que es creïn falses expectatives.

Paraules clau: teràpia avançada, teràpia cel·lular, teràpia gènica, cèl·lula mare, agència reguladora.

ADVANCED THERAPIES: PRESENT AND FUTURE

SUMMARY

Advanced therapies (TAs) are a series of new therapeutic modalities including those using substantially manipulated cells, gene therapy and tissue engineering, fields that have

grown dramatically in the last 20 years as due to a better understanding of the molecular and cellular mechanisms of many diseases, new tools for genetic modification of cells (vectors) and advances in stem cells. TAs have many different application areas, ranging from cancer and hereditary diseases (e.g. in the case of gene therapy), musculoskeletal lesions, autoimmune, degenerative or transplants in the case of cells therapies or tissue engineering. As occurs with any treatment, TAs have risks, sometimes very dramatic, so it is reasonably necessary to ensure that potential benefits outweigh the potential risks. On the other hand, if we want that these therapies are investigated and get soon to the patients bedside, over-regulation by the responsible agencies should be avoided. Lastly, health care and media professionals must convey to the society realistic messages to avoid creating false expectations.

Key words: advanced therapy, cell therapy, gene therapy, stem cell, regulatory agency.

ÍNDEX DE SIGLES

AAV: virus adenoassociats

AEMPS: Agència Espanyola de Medicaments i Productes Sanitaris

ATMP: producte medicinal de teràpia avançada (*advanced therapy medicinal product*)

CAT: comitè de teràpies avançades de l'Agència Europea del Medicament

EMA: Agència Europea del Medicament

FDA: Food and Drug Administration

GMP: bones pràctiques de producció (*good manufacturing practice*)

GTMP: producte medicinal de teràpia gènica (*gene therapy medicinal product*)

GVHD: malaltia de l'empelt contra l'hoste (*graft versus host disease*)

iPSC: cèl·lula amb pluripotencialitat induïda (*induced pluripotent stem cell*)

MSC: cèl·lula mare mesenquimàtica (*mesenchymal stem —or stromal— cell*)

sCTMP: producte medicinal de teràpia cel·lular somàtica (*somatic cell therapy medicinal product*)

TA: teràpies avançades

TC: teràpia cel·lular

TEP: producte d'enginyeria tissular (*tissue engineered product*)

TG: teràpia gènica

INTRODUCCIÓ

Els avenços que s'han produït en els darrers trenta anys en biologia molecular, cel·lular o fisiopatologia ens ofereixen noves eines, tecnologies i possibilitats terapèutiques que fa tan sols un quart de segle eren inimaginables. Es coneixen com a teràpies avançades (TA) totes les estratègies amb finalitat terapèutica basades en cèl·lules o teixits manipulats, o bé en molècules portadores d'informació genètica. Així, podem dividir les TA fonamentalment en tres disciplines: la teràpia cel·lular (TC), la teràpia gènica (TG) i l'enginyeria tissular. Aquesta darrera disciplina no serà tractada en aquest capítol, ja que hi ha un capítol específic en aquest mateix volum de TREBALLS DE LA SCB. Tampoc no es tractarà la nanomedicina, especialitat que alguns experts també consideren dins les TA.

Un concepte essencial en TA és el que s'anomena *producte medicinal de teràpia avançada*, o amb les seves sigles en anglès (ATMP), que es defineix com qualsevol producte medicinal basat en la TG, en cèl·lules somàtiques manipulades o en l'enginyeria de teixits. Així doncs, tenim els GTMP (*gene therapy medicinal products*), els sCTMP (*somatic cell therapy medicinal products*) i els TEP (*tissue engineered products*). El ràpid creixe-

ment de les TA en els darrers anys ha estat clarament afavorit per les troballes de diferents tipus de cèl·lules mare (*stem cells*) en la majoria de teixits adults i per una millor comprensió de la biologia d'aquestes cèl·lules, així com per nous desenvolupaments en el coneixement de les cèl·lules embrionàries, i el descobriment de nous paradigmes com ara les cèl·lules amb pluripotencialitat induïda (iPSC) o la transdiferenciació.

Una gran part de la recerca en TA s'orienta a malalties que es consideren incurables o bé a aquelles en les quals les teràpies disponibles no són prou satisfactòries. Malgrat tot, l'àmbit d'aplicació de les TA és potencialment molt ampli, i inclou, en el cas de la TG, des del càncer a un gran nombre de malalties hereditàries i, en el cas de la TC, molts processos degeneratius. De fet, les TA, i en especial les basades en cèl·lules mare, són la base de la medicina regenerativa.

TERÀPIA CEL·LULAR

La TC consisteix en l'ús de cèl·lules amb una finalitat curativa o preventiva. No es considera TC una transfusió d'eritròcits o de plaquetes, ni tan sols un trasplantament hematopoètic convencional, encara que tots aquests procediments es facin amb cèl·lules, ja que el concepte de TC implica necessàriament una manipulació substancial de les cèl·lules (per exemple, cultiu, expansió *ex vivo*, modificació genètica, exposició a antígens *in vitro*, etc.). Tampoc no són TA els trasplantaments d'òrgans sòlids ni de teixits no manipulats, encara que aquests estiguin formats per cèl·lules. La TC implica l'ús de cèl·lules que, bé perquè formen part d'un teixit líquid (per exemple, la sang) o bé perquè s'han disgregat, es troben en suspensió o en cultius adherents. Tenint en compte la procedència de les cèl·lules utilitzades, podem classificar les TC en aquelles

que utilitzen cèl·lules de l'individu mateix (autòlogues) o cèl·lules d'un altre donant (al·logèniques). En el cas que el donant no fos de l'espècie humana, parlariem de cèl·lules xenogèniques.

Les TC poden funcionar per diferents mecanismes, i no sempre és necessari que les cèl·lules que s'administren siguin cèl·lules que facin la funció pròpia del teixit diana o s'hi converteixin (per exemple, miocardi o os). Per exemple, algunes cèl·lules de la medulla òssia poden fusionar-se amb altres cèl·lules residents en teixits o òrgans lesionats, o bé simplement actuen mitjançant mecanismes paracrins, basats en la secreció de substàncies tròfiques que poden estimular progenitors endògens residents en els teixits lesionats (Gnecchi *et al.*, 2008). De fet, molts investigadors pensen que un millor coneixement d'aquests efectes paracrins donarà lloc a noves estratègies terapèutiques que podrien evitar en molts casos l'ús de cèl·lules. Els teixits lesionats, per altra banda, generen senyals que atrauen cèl·lules que puguin afavorir la regeneració. Un exemple: en un trasplantament hematopoètic, les cèl·lules mare administrades nien en la medulla òssia, però només si aquesta ha estat prèviament condicionada amb un tractament mieloablatiu prou intens (basat en radioteràpia o quimioteràpia). Un altre exemple: si infonem MSC, aquestes tenen especial predilecció per localitzar-se en àrees lesionades (Kang *et al.*, 2012). Aquest concepte és molt important i cal tenir-lo en compte a l'hora de dissenyar estratègies de TC, ja que una vegada hagi passat la fase aguda d'una lesió, el teixit lesionat probablement deixarà de generar els senyals per atraure i reclutar cèl·lules amb potencial reparador o regenerador.

Cèl·lules hematopoètiques

La sang (i la medulla òssia) és l'únic teixit líquid de l'organisme, en el qual les cèl·lules estan suspeses en el plasma (o bé adherides a altres cèl·lules en el cas de la medulla òssia, que és el lloc on té lloc l'hematopoesi, la generació de les cèl·lules sanguínies, incloent-hi totes les que formen el sistema immunitari). Es poden obtenir aquestes cèl·lules a partir d'una simple mostra de sang o d'aspirat de medulla òssia. Per això no és casualitat que siguin els diferents tipus de cèl·lules hematopoètiques les primeres i les que més s'han utilitzat en TC. Com dèiem abans, el trasplantament hematopoètic no es pot considerar una TA si no es fa amb cèl·lules que hagin estat substancialment manipulades, però sí és cert que va ser el primer tractament basat en cèl·lules que es va aplicar a la clínica (excloent-ne les transfusions de sang), i també que és la base de moltes formes de TA, incloent algunes de les de TG que fins aquest moment han estat més reeixides. Aplicat des de fa més de quaranta anys, ha fet possible la curació de milers de casos d'hematopaties malignes i malalties hereditàries, de manera que avui és un procediment rutinari en cents d'hospitals d'arreu del món. Actualment, també s'estan investigant diferents formes de trasplantament hematopoètic per tractar malalties autoimmunitàries, com ara l'esclerosi múltiple o la malaltia inflamatòria intestinal (Snowden *et al.*, 2012). Els avenços en el coneixement de la biologia de les cèl·lules hematopoètiques i en les tècniques de manipulació han anat sofisticant el procediment i introduint noves variants, com ara els tractaments *ex vivo* per fer una depleció de cèl·lules malignes en trasplantaments autòlegs (Brugger *et al.*, 1997), la selecció immunomagnètica de progenitors immadurs basada en el marcador CD34, la depleció negativa de cèl·lules T per reduir

el risc de malaltia de l'empelt contra l'hoste (GVHD) en els trasplantaments al·logènics (Ho *et al.*, 2001) o l'expansió de progenitors *ex vivo* per reduir el període d'aplàsia en trasplantaments de sang de cordó umbilical (Dahlberg *et al.*, 2011), una font de progenitors d'excel·lent qualitat però limitada pel volum escàs i el reduït nombre de cèl·lules mare. La TG *ex vivo* també es pot considerar una forma de TC, en basar-se en l'ús de cèl·lules que són manipulades genèticament i posteriorment trasplantades; de fet, moltes TA són en realitat una combinació de TC i TG.

La immunoteràpia és un terme ampli que inclou aproximacions terapèutiques molt diverses, com ara les vacunes o els trasplantaments hematopoètics al·logènics, però també algunes que es poden considerar TA. Com a exemples tenim la generació *ex vivo* de cèl·lules dendrítiques (CD) madures per induir respostes immunitàries (per exemple, en càncer) (Palucka *et al.*, 2012) o l'expansió i activació de cèl·lules NK o cèl·lules citotòxiques específiques d'antigen per induir o afavorir respostes immunitàries davant infeccions o tumors (Restifo *et al.*, 2012). D'altra banda, la TC pot utilitzar-se en sentit contrari, per prevenir o frenar respostes immunitàries ja establertes i que siguin perjudicials, com ara les subjacents a algunes malalties autoimmunitàries. En aquest sentit, s'han aplicat CD tolerogèniques a pacients amb diabetis de tipus 1 (Giannoukakis *et al.*, 2011) i està previst aplicar-les a d'altres malalties com l'esclerosi múltiple. El descobriment, l'any 1995, de cèl·lules T amb activitat reguladora natural (Tregs) (Sakaguchi *et al.*, 1995) va permetre incorporar aquestes cèl·lules a l'arsenal terapèutic de la TC. Avui es coneixen diferents tipus de cèl·lules T reguladores, alguns dels quals es poden aïllar i expandir *ex vivo* i s'han utilitzat terapèuticament i amb èxit en el context del trasplantament hemato-

poètic per tal de reduir la GVHD (Trzonkowski *et al.*, 2009). Un altre tipus cellular especialment prometedor per a la TC són les anomenades *cèl·lules mieloides supressores* (MDSC), potencialment útils per inhibir respostes immunitàries no desitjades (en el trasplantament d'òrgans o en la GVHD) (Dilek *et al.*, 2012; Highfill *et al.*, 2010) o bé per induir tolerància en malalties autoimmunitàries (Yin *et al.*, 2010).

Cèl·lules mesenquimàtiques

Després de les cèl·lules hematopoètiques, unes de les més utilitzades en TC són les cèl·lules estromàtiques mesenquimàtiques, també conegudes com a *cèl·lules mare mesenquimàtiques* (MSC). Aquestes cèl·lules formen part del teixit connectiu, i es poden trobar en molts òrgans, encara que d'on se n'obtenen en més quantitat i amb més facilitat és de la medulla òssia i del teixit adipós subcutani. Les MSC són especialment atractives per a la TC i la medicina regenerativa per diversos motius. A més de la seva facilitat d'obtenció, es poden expandir (unes cinquanta divisions) i manipular *ex vivo*, tenen una gran plasticitat i, en determinades circumstàncies, són potents agents immunosupressors (Wang *et al.*, 2011). Quant a la plasticitat, són progenitors que poden diferenciar-se en, almenys, quatre tipus cel·lulars: múscul llis, adipòcits, condrocits i osteoblasts, i probablement també en cardiomiòcits (Xu *et al.*, 2004), hepatòcits (Wu *et al.*, 2012) i neurones (Brazelton *et al.*, 2000; Mezey *et al.*, 2000). Amb aquests antecedents, és fàcil d'entendre que hagin donat bons resultats en la reparació i regeneració de lesions de l'aparell locomotor, com fractures òssies que no consoliden o en lesions del cartílag condral (Mariani *et al.*, 2012). Respecte a la seva capacitat immunosupressora, només es pro-

dueix quan les MSC són cultivades i els mecanismes són múltiples, i inclouen des de la secreció de factors solubles com la indoleamina-2,3-dioxigenasa (IDO), la prostaglandina E₂ (PGE₂) o la interleucina 10 (IL-10), a la inducció de cèl·lules T reguladores (Gebler *et al.*, 2012). Aquesta vessant immunoreguladora de les MSC ha portat molts clínics a investigar-ne el potencial terapèutic en alguns processos inflamatoris crònics, com ara la GVHD en receptors d'un trasplantament hematopoètic (Tolar *et al.*, 2011) o en pacients amb malaltia inflamatòria intestinal (Garcia-Gomez *et al.*, 2010).

Regeneració miocàrdica

Una àrea de gran transcendència, per la seva gravetat i l'elevada prevalença en la població, i en la qual molts experts han dipositat moltes esperances, és la regeneració cardíaca, per exemple, després d'un infart de miocardi, tant en la fase aguda com en la d'insuficiència cardíaca crònica (Strauer *et al.*, 2011). Malgrat aquest enorme interès i que s'han fet molts assaigs clínics, els resultats obtinguts han estat modestos (Clifford *et al.*, 2012), encara que aquesta línia segueix sent motiu d'intensa investigació. Un dels obstacles més importants a l'hora de treure conclusions vàlides dels estudis clínics és el gran nombre de variables que afecten els resultats, i això és especialment patent en aquest àmbit de la regeneració cardíaca. Així, diferents estudis han utilitzat diferents tipus cel·lulars (cèl·lules mononucleades de medulla òssia, cèl·lules CD34⁺ o CD133⁺ seleccionades, mioblasts o MSC), diferent manipulació cel·lular, diferent dosi de cèl·lules, diferents vies d'administració (intravenosa, intracoronària, periinfàrtica), diferents indicacions, pacients d'edat diferent, els tractaments s'han aplicat en diferents moments o estadis evolutius de la malaltia, o direc-

tament en malalties diferents (Dimmeler *et al.*, 2008). Aquesta enorme heterogeneïtat fa que els resultats obtinguts en els diferents estudis difícilment es puguin comparar entre si, però també ens indica que l'ajust i optimització de totes aquestes variables probablement encara deixa força marge per a la millora. Noves línies de recerca potencialment rellevants per a la regeneració cardíaca inclouen la investigació i l'ús de cèl·lules mare cardíques, encara molt poc conegudes (Fрати *et al.*, 2011).

Cèl·lules pluripotencials

Una altra font de cèl·lules especialment prometedores per a la TC són les cèl·lules pluripotencials, de les qual n'hi ha dos tipus, les embrionàries (*embryonic stem cells*, o ESC) i les adultes amb pluripotencialitat induïda (*induced pluripotent stem cells*, o iPSC). Les ESC són cèl·lules pluripotencials que es poden aïllar de la massa interna del blastocist, un embrió de 5-6 dies. Des que el 1998 es va descobrir la tècnica per cultivar indefinidament les ESC humanes (Thomson *et al.*, 1998), s'ha descrit un gran nombre de protocols per diferenciar-les en molts dels aproximadament dos-cents diferents tipus cel·lulars madurs coneguts, amb una clara orientació envers la medicina regenerativa. En teoria, aquestes cèl·lules han de permetre aconseguir cèl·lules madures de qualsevol tipus i en la quantitat que vulguem (per exemple, hepatòcits per regenerar el fetge o neurones per regenerar el sistema nerviós). El problema és que, deixant de banda els problemes ètics que implica l'ús d'embrions humans, per motius obvis, ningú no disposa de les seves pròpies ESC, que serien les úniques histocompatibles per evitar problemes de rebuig. A més, si no estan completament diferenciades, aquestes cèl·lules poden produir tumors (teratomes) *in*

vivo. La solució a alguns d'aquests inconvenients la va proporcionar el descobriment, l'any 2006, de les iPSC. Aquestes són cèl·lules adultes (per exemple, queratinòcits de pell, fibroblasts, monòcits o d'altres) que, gràcies a l'activació forçada de programes genètics de pluripotencialitat, aconseguïda normalment amb la transferència d'uns pocs factors de transcripció (de dos a quatre), el seu epigenoma ha estat reprogramat a un estat molt més immadur, indiferenciat, en molts aspectes equivalent al de les ESC (Takahashi *et al.*, 2006), encara que s'han observat algunes diferències en l'expressió gènica, cosa que suggereix que les iPSC podrien no estar completament reprogramades (Saric *et al.*, 2008). Aquestes iPSC creixen indefinidament en cultiu (vegeu la figura 1) i poden obtenir-se a partir de qualsevol persona adulta, la qual cosa elimina els problemes ètics i els del rebuig potencial, però comparteixen altres inconvenients amb les ESC, com ara l'oncogenicitat potencial. A més, en tractar-se de cèl·lules obtin-

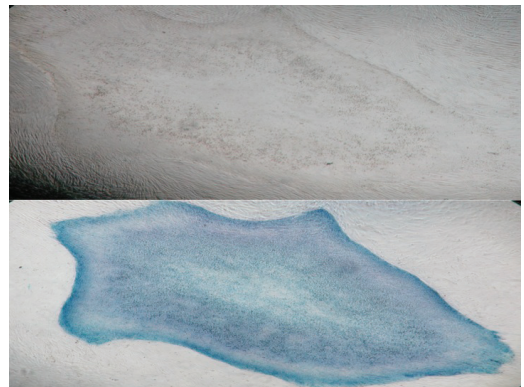


FIGURA 1. Microfotografies d'una colònia d'iPSC humanes abans i després d'una tinció amb fosfatasa alcalina. Aquestes colònies creixen sobre una capa de cèl·lules de fibroblasts obtinguts de prepuci humà, que tenen un aspecte fusiforme i que no es tenyeixen, mentre que les iPSC adquireixen un color blau (fotos fetes per Sergio López, Laboratori de Teràpia Gènica i CeHular, VHIR, Barcelona).

gudes en molts casos utilitzant vectors integratius i oncogenes (com ara *MYC*), per una banda són portadores d'integracions d'aquests vectors en els seus genomes, cosa que pot donar lloc a transactivació d'oncogenes adjacents, i per l'altra, hi ha el risc que els gens utilitzats per a la reprogramació no siguin completament silenciats una vegada reprogramades les cèl·lules. Amb tot, ja s'han utilitzat cèl·lules derivades d'ESC en diferents assaigs clínics, per al tractament de la lesió medullar espinal o la degeneració macular. En el primer cas es van utilitzar progenitors d'oligodendròcits derivats d'ESC, però la companyia californiana que desenvolupava el producte (Geron®) va anunciar fa pocs mesos que abandonava aquesta línia de recerca, sense que s'hagin fet públics els resultats obtinguts.

Transdiferenciació cel·lular

Una estratègia diferent per aconseguir cèl·lules autòlogues d'un determinat tipus que siguin vàlides per a aplicacions en medicina regenerativa és la transdiferenciació. En aquest cas no es tracta de reprogramar cèl·lules somàtiques a un estat pluripotencial per després rederivar-les a un estadi diferenciat diferent, sinó de forçar una transdiferenciació directa des d'un estat ja diferenciat a un altre. Això es pot aconseguir gràcies al coneixement dels factors de transcripció crítics que determinen el desenvolupament i la diferenciació (Pournasr *et al.*, 2011). En aquest sentit, s'ha aconseguit, per exemple, generar macròfags a partir de cèl·lules B i T madures (Bussmann *et al.*, 2009; Laiosa *et al.*, 2006), o neurones a partir de fibroblasts (Vierbuchen *et al.*, 2010). Aquesta estratègia en general és molt ràpida, i permet aconseguir una transdiferenciació molt eficient en molts pocs dies, en lloc de les setmanes o mesos que calen

per generar i diferenciar iPSC. Un avantatge potencial addicional és que en no haver de passar per un estat pluripotencial, les cèl·lules que s'obtinguin amb aquestes estratègies podrien tenir menys risc oncogènic.

TERÀPIA GÈNICA

A la dècada dels vuitanta del segle passat es van desenvolupar els primers vectors vírics que permetien introduir material genètic en cèl·lules de mamífer amb una eficiència que a molts els va semblar adequada per aventurar-se a aplicar-los en la clínica. Aquests vectors es basaven en virus modificats genèticament de manera que no es poguessin replicar, però sí introduir el seu material genètic (en aquest cas gens terapèutics) dins les cèl·lules. Alguns, com ara els derivats dels retrovirus, integren aquest gens terapèutics en els genomes de les cèl·lules hoste, mentre que d'altres com els derivats d'adenovirus o dels virus adenoassociats (AAV) són de tipus no integratiu. Els primers solen utilitzar-se en estratègies anomenades *ex vivo*, en les quals l'exposició de les cèl·lules diana al vector es fa fora de l'individu (cosa que fa necessari que aquestes cèl·lules siguin trasplantables), mentre que els segons, que es poden concentrar fins a títols molt alts, de 10^{12} partícules/ml o més, es fan servir principalment en estratègies *in vivo*, en què els vectors són administrats directament al pacient (vegeu la figura 2).

Primeres experiències

Els primers assaigs en humans van començar l'any 1990, però globalment els resultats van ser decebedors, en gran part per la baixa eficiència dels procediments i

per la inducció de respostes immunitàries contra components del vector o del producte mateix del transgèn terapèutic. L'any 2000 es va publicar el primer èxit en forma de curacions en nens afectats d'una forma d'immunodeficiència combinada severa lligada al cromosoma X i deguda a defectes en el gen que codifica la molècula γc (la subunitat gamma comuna de receptors d'interleucines) (Cavazzana-Calvo *et al.*, 2000). No és casual que aquesta teràpia utilitzés com a teixit diana cèl·lules mare hematopoètiques, com tampoc ho és el fet que aquestes cèl·lules s'haguessin utilitzat en una de les formes més reeixides de trasplantament allogènec, el de medulla òssia o de progenitors hematopoètics, tal com s'ha esmentat abans. Aquest èxit, però, es va veure enterbolit pocs anys després per l'aparició de leucèmies en cinc dels setze nens tractats (entre els tractats a França i al Regne Unit), i que estaven causades per insercions del vector retroviral en seqüències adjacents a oncogens, en la majoria de casos el *LMO2*, i que van afavorir la transformació cancerosa (Hacein-Bey-Abina *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2011). També han estat

reeixits altres assaigs clínics en altres formes d'immunodeficiència com la deguda a la deficiència de l'enzim adenosina-desaminasa (ADA) (Aiuti *et al.*, 2002) o la síndrome de Wiskott-Aldrich (Boztug *et al.*, 2010). En aquest darrer assaig també s'ha observat transformació leucèmica en un dels deu nens tractats. Aquest tipus de complicació, tot i ser molt greu, és curable en la majoria de casos utilitzant quimioteràpia i, ocasionalment, un trasplantament allogènec de progenitors hematopoètics. Amb tot, en aquestes situacions, la relació risc/benefici cal sospesar-la individualment amb molta cura, però en molts casos probablement és decanta a favor de la TG, tenint en compte que es tracta de malalties mortals en les quals l'única alternativa és sovint el trasplantament hematopoètic d'un donant no emparentat, un procediment que sol tenir més riscos i més greus que la TG mateixa. Aquests assaigs en aquestes tres formes d'immunodeficiència primària han tingut a favor seu dos factors que probablement han estat crucials per a l'èxit terapèutic. Per una banda, la immunodeficiència mateixa impedeix que es generin respostes immunitàries i fa que les cèl·lules transduïdes no puguin ser rebutjades, i per l'altra, l'enorme avantatge selectiu de les cèl·lules «corregides» genèticament respecte a les no corregides quant a supervivència i capacitat proliferativa *in vivo*, cosa que fa innecessària o permet reduir dràsticament la dosi de tractament mieloablatiu (condicionament) previ al trasplantament. En altres malalties hereditàries, de fet per a la immensa majoria, la situació és molt diferent, ja que la modificació genètica de les cèl·lules corregides no es preveu que hagi de conferir cap avantatge selectiu, de manera que, en el cas d'utilitzar cèl·lules hematopoètiques *ex vivo*, teòricament seria necessari aconseguir una alta eficiència de transducció i un bon empelt. Alguns exemples són la malaltia gra-

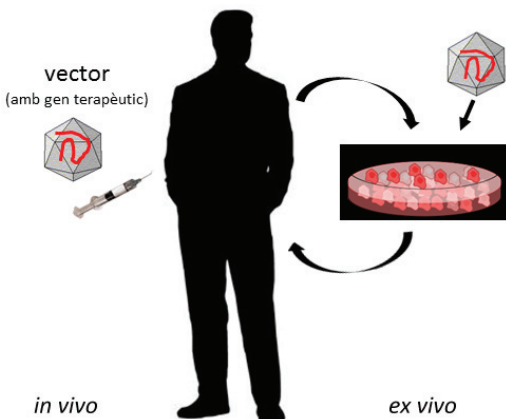


FIGURA 2. Esquema de les diferents formes de TG, dependent d'on tingui lloc la transducció de les cèl·lules diana, fora de l'individu (TG *ex vivo*, dreta) o dins, amb administració prèvia dels vectors (TG *in vivo*, esquerra).

nulomatosa crònica, la β -talassèmia, la leucodistròfia metacromàtica o l'adrenoleucodistròfia. De fet, s'han publicat resultats d'estudis clínics en aquestes malalties en alguns casos positius, però que han estat força controvertits; per exemple, en la malaltia granulomatosa crònica. El problema és que part de l'èxit es deu a expansions clonals de cèl·lules transduïdes, motivades no per la recuperació funcional deguda a la correcció genètica sinó per l'activació transcripcional d'oncogens propers als punts d'inserció del vector (Cartier *et al.*, 2012; Cavazzana-Calvo *et al.*, 2010; Ott *et al.*, 2006), un factor que en podria afavorir la transformació cancerosa. Per si tot això fos poc, molt recentment s'ha comprovat que les insercions dels vectors integratius en els genomes de les cèl·lules hoste també alteren amb molta freqüència l'empalmament (*splicing*) del transgèn i dels gens adjacents, un factor addicional que també podria contribuir a l'oncogènesi (Cesana *et al.*, 2012; Moiani *et al.*, 2012).

Resultats actuals

Malgrat tots aquests obstacles, després de dues dècades de grans expectatives alimentades en gran part pels mitjans de comunicació, la teràpia gènica ha anat avançant, lentament però amb fermesa, fins que en aquests moments podem afirmar que estem davant un horitzó força esperançador. Ja hem esmentat alguns dels assaigs clínics reeixits en els darrers anys i alguns problemes associats a l'ús de vectors integratius i la teràpia gènica *ex vivo* (Deakin *et al.*, 2009). En aquest sentit s'estan fent molts progressos, com són els vectors SIN (*self inactivating*), en els quals s'ha eliminat una seqüència potenciadora de la transactivació, o l'adreçament (*targeting*) dels vectors a regions segures del genoma. D'altra banda, els assaigs amb vectors no integratius tam-

bé estan donant resultats prometedors. En aquest sentit, un tipus de vectors particularment efectius són els derivats de l'AAV, virus dels quals ara mateix se'n coneixen més de deu serotips, amb diferents tropismes per als diferents teixits diana (Grieger *et al.*, 2012). De fet, una teràpia que ja ha funcionat després de molts anys d'anar superant obstacles ha estat la que utilitza AAV dirigits a fetge en l'hemofília B (Nathwani *et al.*, 2011). En aquest cas es va utilitzar un vector AAV serotip 8 que codificava el factor 9 (F9) de la coagulació sota un promotor específic d'hepatòcits, i que es va injectar per via sistèmica a un total de sis pacients (dos van rebre una única dosi de 2×10^{11} vectors/kg; dos, una dosi tres vegades més alta i, dos més, una dosi deu vegades més alta). La resposta terapèutica obtinguda va ser dosidependent, en el darrer cas els pacients van assolir nivells de F9 entre el 2 i l'11 % dels valors normals, suficients per convertir una hemofília greu en una lleu-moderada, i aquests nivells es van mantenir un mínim de sis mesos. Tinent en compte que el preu d'aquests vectors és aproximadament d'uns 20.000 \$ per pacient, es pot deduir que l'estalvi (només econòmic) en F9 recombinant a llarg termini pot ser enorme. La resposta immunitària contra antígens del vector, que havia limitat la tècnica en el passat i que es va observar en els dos pacients que havien rebut la dosi més alta del vector, es va controlar utilitzant una simple pauta d'esteroides. També s'han utilitzat AAV per tractar amb èxit una rara forma de ceguesa anomenada *amaurosi congènita de Leber*, produïda per defectes en el gen *RPE65* (Simonelli *et al.*, 2010). En aquest cas el vector es va administrar directament a la cambra posterior de l'ull, cosa que va permetre dirigir el vector al teixit diana amb molta precisió i utilitzant uns volums d'injecció molt petits, i es va aprofitar el fet que aquesta localitza-

ció anatòmica és especialment immunoprivilegiada.

Aplicacions potencials en oncologia

La TG també s'ha aplicat, encara que amb menys èxit, a diferents tipus de càncer. Una de les primeres aproximacions que es van investigar va ser la del gens suïcides, com ara el de la timidina-cinasa del virus de l'herpes simple, que confereix sensibilitat al fàrmac ganciclovir, encara que en general els resultats en els assaigs clínics no han estat gaire positius. En canvi, aquest tipus de TG sí que va funcionar relativament bé en el tractament de la GVHD, en el context del trasplantament hematopètic (Lupo-Stanghellini *et al.*, 2010). Una de les estratègies més prometedores en la TG del càncer és la viroteràpia, que utilitza adenovirus o d'altres tipus de virus que han estat dissenyats per multiplicar-se en un cicle lític específicament en cèl·lules portadores d'alteracions genètiques concretes, com ara la inactivació de *p53* o d'altres gens supressors com passa en molts tumors (Alemany, 2009).

REGULACIÓ I FUTUR DE LES TA

Al nostre país, les TA estan regulades pel Comitè Espanyol de Teràpies Avançades, dependent de l'Agència Espanyola de Medicaments i Productes Sanitaris (AEMPS), amb una normativa que s'emmarca dins el que dictamina el Comitè per a les TA (CAT), un comitè d'experts multidisciplinari dependent de l'Agència Europea del Medicament (EMA), i que té com a principal objectiu avaluar i garantir la qualitat, seguretat i eficàcia dels ATMP, i de seguir tots els desenvolupaments científics dins d'aquesta àrea (podeu trobar més informa-

ció a www.aemps.gob.es/investigacionClinical/terapiasAvanzadas/home.htm). A la Unió Europea, els ATMP estan regulats per la normativa (EC) núm. 1394/2007 (http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-1/reg_2007_1394/reg_2007_1394_es.pdf), que és d'aplicació obligatòria des de desembre de 2008, encara que cada país membre té la seva pròpia agència reguladora amb uns marges de maniobra relativament amplis. En general, la normativa vigent actualment a la Unió Europea, tal com passa també als Estats Units (que en aquest terreny segueix les normes dictades per l'omnipotent Food and Drug Administration, o FDA), estableix una regulació molt estricta, similar a la dels fàrmacs convencionals, en la qual prima la seguretat, fet que molts investigadors consideren un impediment per al desenvolupament adequat de les TA. Sota la normativa actual, qualsevol forma d'ATMP, abans de poder ser comercialitzada, ha de demostrar, seguint tots els passos d'avaluació preclínica i clínica (fases I, II i III), que és adequat quant a eficàcia, seguretat i relació cost/benefici per tractar una malaltia determinada. Un dels problemes és que el gruix de la investigació sobre TA no l'està fent la indústria farmacèutica, sinó grups relativament petits que treballen en institucions acadèmiques, hospitals o centres públics de recerca, i aquests grups generalment no tenen capacitat per portar els seus ATMP a la clínica. És cert que la indústria farmacèutica dóna suport o col·labora amb molts d'aquests grups, però en general fins ara les grans companyies no han demostrat un gran interès en les TA. Un exemple molt clarificador és la TG per a l'hemofília. El pes de la recerca per aconseguir una cura definitiva per a aquesta malaltia, incloent-hi la majoria dels assaigs clínics que s'han fet, l'han duta a terme grups acadèmics. Com abans s'ha esmentat, l'any 2011 es va publicar una sèrie curta de pacients amb hemofí-

lia B en els quals la TG havia estat reeixida. El problema és que els beneficis que genera el mercat de factors de coagulació biotecnològics, en aquest cas el tractament substitutiu que els pacients hemofílics han de rebre per vida, és enormement més gran que el que pot costar curar definitivament aquests pacients, i això fa que les grans companyies prefereixin invertir en medicaments convencionals abans que en TA, molt menys rendibles econòmicament. Una limitació addicional és que moltes de les aplicacions de les TA són per a malalties minoritàries, de vegades extremament rares, cosa que fa que difícilment pugui ser rentable desenvolupar un ATMP específic, independentment que pugui arribar a curar la malaltia en qüestió.

Els ATMP tenen una sèrie de particularitats que els fan molt diferents dels medicaments convencionals. La normativa actual especifica que els ATMP s'han de produir en unitats especialitzades que s'anomenen *sales blanques* i en condicions GMP (*good manufacturing practice*), que n'asseguren la qualitat. Les sales blanques són instal·lacions preparades per fer les manipulacions necessàries dels productes de TA i minimitzar els riscos de contaminació d'aquests. Aquestes sales blanques estan dotades de sistemes filtres HEPA (*high efficiency particulate air*), que garanteixen un nombre màxim de partícules per volum d'aire (Lopez-Holgado *et al.*, 2012). Un fàrmac aconseguit per síntesi química és un producte relativament homogeni que té unes propietats ben definides, es pot produir i emmagatzemar de forma que se'n conservin les propietats, de manera que un comprimit o vial d'aquell medicament fet aquí serà idèntic a un de fet al Japó. Pel que fa als ATMP, la cosa no resulta tan fàcil. En el cas dels vectors de TG, encara s'hi pot acostar, però en els productes de TC la cosa es complica molt més, ja que hem de tenir en compte el gran nombre

de variables que poden influir en la qualitat i les propietats del producte final (font cel·lular, fons genètic, condicions de la manipulació, factors estocàstics, etc), que en conjunt fan que sigui pràcticament impossible aconseguir un producte de TC comercial que sigui homogeni i mantingui sempre unes propietats definides, cosa que limita enormement la validesa dels estudis comparatius. Les agències reguladores haurien de tenir en compte aquestes particularitats de TA i ser més flexibles a l'hora de regular, ja que molts investigadors creuen que amb la normativa actual es corre el risc de frenar el desenvolupament i la translació a la clínica de moltes TA potencialment efectives (Sethe, 2010). Per una banda és comprensible que es vulguin evitar els efectes indesitjables greus i fins i tot mortals com els que s'han esmentat; no s'ha d'oblidar la vella màxima *primum non nocere* ('el primer és no fer mal'), atribuïda a Hipòcrates. El que passa és que hi ha malalties greus per a les quals no hi ha cap tractament efectiu, o bé els que hi ha comporten riscos importants. En aquests casos parlem millor de relació risc/benefici, un paràmetre basat moltes vegades en dades estadístiques. Vegem-ne un exemple imaginari relacionat amb la TG. Estem davant un nen afectat d'una immunodeficiència severa per a la qual tenim, *a priori*, dues opcions terapèutiques: una TG que té un 90 % de probabilitats de curació, però també un risc del 30 % de produir-li una leucèmia com a efecte secundari, o un trasplantament hematopoètic d'un gèrmata compatible (disponible en menys del 25 % dels casos), o bé d'un donant no emparentat, un procediment que, en funció del grau d'histocompatibilitat i l'edat del pacient pot tenir un risc de mortalitat proper al 50 %. Quina alternativa és millor?

En societats com les que tenim a la majoria de països del Primer Món, on la població està cada vegada més envellida i les ma-

lalties degeneratives són cada vegada més prevalents, moltes de les promeses de la medicina regenerativa sonen a cant de sirenes que alguns veuen com una mena d'elixir de l'eterna joventut. Un coneixement profund sobre les cèl·lules mare pot revolucionar la medicina i les nostres vides, però és important que no perdem el rigor ni la visió crítica. Només cal introduir al cercador Google algunes paraules clau com *stem cells* i *therapy* i obtindrem desenes de milions d'entrades. Entre les quinze primeres, sense comptar les que són publicitat pagada per companyies privades (clíniques, bancs de sang de cordó umbilical, etc.), gairebé la tercera part correspon a companyies que ofereixen tractaments basats en cèl·lules mare, que moltes vegades no han passat cap mena de control ètic ni científic i que sovint s'aprofiten de la desesperació de pacients o de les seves famílies. De fet, alguns experts ja han donat el crit d'alarma sobre aquest nou fenomen social que s'ha anomenat *turisme de cèl·lules mare* (Eurordis, 2010). Els riscos de sucumbir a aquests reclams són imprevisibles i quasi sempre seran molt més grans que els possibles beneficis. En el millor dels casos només es perdrà temps, diners i la confiança, però d'altres vegades poden aparèixer complicacions clíniques greus, com el cas, ben documentat, d'un pacient afectat d'atàxia-telangièctasi que, entre els nou i els dotze anys d'edat, va rebre un tractament, en una clínica russa, basat en injeccions repetides, intratecals i intracerebel·losoles de cèl·lules mare neuronals cultivades procedents del sistema nerviós de fetus humans i que li van provocar l'aparició de tumors cerebrals i espinals quatre anys més tard (Amariglio *et al.*, 2009). Aquest cas anecdòtic és il·lustratiu d'un risc real de producció de tumors provocat per cèl·lules mare adultes, i també de la manca de control que hi ha en alguns països sobre les TA. Pel que fa a les ESC i les iPSC, el risc de pro-

duir teratomes també es considera elevat, i de fet la producció de teratomes *in vivo* és una de les proves que es fan servir per demostrar-ne l'estat pluripotencial. En canvi, la llarga experiència amb l'ús d'altres tipus de cèl·lula mare adulta, com ara les hematopoètiques o les MSC, ha demostrat que tenen un excellent perfil de bioseguretat. En el futur es dibuixen bones perspectives per a les TA, però cal que l'avenç es faci amb rigor, cal que es reguli amb la justa prudència, ni massa ni massa poc, cal lluitar contra el frau amb fermesa, i hem d'evitar, els professionals i els mitjans de comunicació, transmetre falses expectatives a la societat, ja que a la llarga empitjorariem la percepció que aquesta té sobre uns tractaments que poden revolucionar la medicina.

AGRAÏMENTS

L'autor està parcialment finançat pel programa Miguel Servet de l'Institut de Salut Carles III (ISCIII), el Ministeri d'Economia i Competitivitat (MEC), i per la Generalitat de Catalunya, i els projectes de recerca del seu grup estan finançats per ajuts de la Unió Europea (ERANET, e-RARE-2), el Pla E (MEC), i el Fons d'Investigació Sanitària, ISCIII, MEC.

BIBLIOGRAFIA

- AIUTI, A.; SLAVIN, S.; AKER, M.; FICARA, F.; DEOLA, S.; MORTELLARO, A.; MORECKI, S.; ANDOLFI, G.; TABUCHI, A.; CARLUCCI, F.; MARINELLO, E.; CATTANEO, F.; VAL, S.; SERVIDA, P.; MINIERO, R.; RONCAROLO, M. G.; BORDIGNON, C. (2002). «Correction of ADA-SCID by stem cell gene therapy combined with nonmyeloablative conditioning». *Science*, 296: 2410-2413.
- ALEMANY, R. (2009). «Designing adenoviral vectors for tumor-specific targeting». *Methods. Mol. Biol.*, 542: 57-74.
- AMARIGLIO, N.; HIRSHBERG, A.; SCHEITHAUER, B. W.; COHEN, Y.; LOEWENTHAL, R.; TRAKHTENBROT, L.; PAZ, N.;

- KOREN-MICHOWITZ, M.; WALDMAN, D.; LEIDER-TREJO, L.; TOREN, A.; CONSTANTINI, S.; RECHAVI, G. (2009). «Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient». *PLoS Med.*, 6: e1000029.
- BOZTUG, K.; SCHMIDT, M.; SCHWARZER, A.; BANERJEE, P. P.; DIEZ, I. A.; DEWEY, R. A.; BOHM, M.; NOWROUZI, A.; BALL, C. R.; GLIMM, H.; NAUNDORF, S.; KUHLCHE, K.; BLASCZYK, R.; KONDRATENKO, I.; MARODI, L.; ORANGE, J. S.; KALLE, C. VON; KLEIN, C. (2010). «Stem-cell gene therapy for the Wiskott-Aldrich syndrome». *N. Engl. J. Med.*, 363: 1918-1927.
- BRAZELTON, T. R.; ROSSI, F. M.; KESHET, G. I.; BLAU, H. M. (2000). «From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice». *Science*, 290: 1775-1779.
- BRUGGER, W.; SCHEDING, S.; BOCK, T.; ZIEGLER, B.; KANZ, L. (1997). «Purging of peripheral blood progenitor cell autografts and treatment of minimal residual disease». *Stem Cells*, 15 (supl. 1): 159-165.
- BUSSMANN, L. H.; SCHUBERT, A.; VU MANH, T. P.; ANDRES, L. de; DESBORDES, S. C.; PARRA, M.; ZIMMERMANN, T.; RAPINO, F.; RODRIGUEZ-UBREVA, J.; BALLESTAR, E.; GRAF, T. (2009). «A robust and highly efficient immune cell reprogramming system». *Cell. Stem Cell.*, 5: 554-566.
- CARTIER, N.; HACEIN-BEY-ABINA, S.; BARTHOLOMAE, C. C.; BOUGNERES, P.; SCHMIDT, M.; KALLE, C. V.; FISCHER, A.; CAVAZZANA-CALVO, M.; AUBOURG, P. (2012). «Lentiviral hematopoietic cell gene therapy for X-linked adrenoleukodystrophy». *Methods. Enzymol.*, 507: 187-198.
- CAVAZZANA-CALVO, M.; HACEIN-BEY, S.; SAINT BASILE, G. de; GROSS, F.; YVON, E.; NUSBAUM, P.; SELZ, F.; HUE, C.; CERTAIN, S.; CASANOVA, J. L.; BOUSSO, P.; DEIST, F. L.; FISCHER, A. (2000). «Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease». *Science*, 288: 669-672.
- CAVAZZANA-CALVO, M.; PAYEN, E.; NEGRE, O.; WANG, G.; HEHIR, K.; FUSIL, F.; DOWN, J.; DENARO, M.; BRADY, T.; WESTERMAN, K.; CAVALLESCO, R.; GILLET-LEGRAND, B.; CACCAVELLI, L.; SGARRA, R.; MAOUCHE-CHRETIEN, L.; BERNAUDIN, F.; GIROT, R.; DORAZIO, R.; MULDER, G. J.; POLACK, A.; BANK, A.; SOULIER, J.; LARGHERO, J.; KABBARA, N.; DALLE, B.; GOURMEL, B.; SOCIE, G.; CHRETIEN, S.; CARTIER, N.; AUBOURG, P.; FISCHER, A.; CORNETTA, K.; GALACTEROS, F.; BEUZARD, Y.; GLUCKMAN, E.; BUSHMAN, F.; HACEIN-BEY-ABINA, S.; LEBOLUCH, P. (2010). «Transfusion independence and HMG2 activation after gene therapy of human beta-thalassaemia». *Nature*, 467: 318-322.
- CESANA, D.; SGUALDINO, J.; RUDILOSSO, L.; MERELLA, S.; NALDINI, L.; MONTINI, E. (2012). «Whole transcriptome characterization of aberrant splicing events induced by lentiviral vector integrations». *J. Clin. Invest.*, 122: 1667-1676.
- CLIFFORD, D. M.; FISHER, S. A.; BRUNSKILL, S. J.; DOREE, C.; MATHUR, A.; WATT, S.; MARTIN-RENDON, E. (2012). «Stem cell treatment for acute myocardial infarction». *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2: CD006536.
- COMMITTEE FOR ADVANCED THERAPIES (2010). «Use of unregulated stem-cell based medicinal products». *Lancet*, 376: 514.
- DAHLBERG, A.; DELANEY, C.; BERNSTEIN, I. D. (2011). «Ex vivo expansion of human hematopoietic stem and progenitor cells». *Blood*, 117: 6083-6090.
- DEAKIN, C. T.; ALEXANDER, I. E.; KERRIDGE, I. (2009). «Accepting risk in clinical research: is the gene therapy field becoming too risk-averse?». *Mol. Ther.*, 17: 1842-1848.
- DILEK, N.; VUILLEFROY DE SILLY, R.; BLANCHO, G.; VANHOVE, B. (2012). «Myeloid-derived suppressor cells: mechanisms of action and recent advances in their role in transplant tolerance». *Front. Immunol.*, 3: 208.
- DIMMELER, S.; LERI, A. (2008). «Aging and disease as modifiers of efficacy of cell therapy». *Circ. Res.*, 102: 1319-1330.
- FRATI, C.; SAVI, M.; GRAIANI, G.; LAGRASTA, C.; CAVALLI, S.; PREZIOSO, L.; ROSSETTI, P.; MANGIARACINA, C.; FERRARO, F.; MADEDDU, D.; MUSSO, E.; STILLI, D.; ROSSINI, A.; FALCO, A.; ANGELIS, A. D.; ROSSI, F.; URBANEK, K.; LERI, A.; KAJSTURA, J.; ANVERSA, P.; QUAINI, E.; QUAINI, F. (2011). «Resident cardiac stem cells». *Curr. Pharm. Des.*, 17: 3252-3257.
- GARCIA-GOMEZ, I.; ELVIRA, G.; ZAPATA, A. G.; LAMANA, M. L.; RAMIREZ, M.; CASTRO, J. G.; ARRANZ, M. G.; VICENTE, A.; BUEREN, J.; GARCIA-OLMO, D. (2010). «Mesenchymal stem cells: biological properties and clinical applications». *Expert. Opin. Biol. Ther.*, 10: 1453-1468.
- GEBLER, A.; ZABEL, O.; SELIGER, B. (2012). «The immunomodulatory capacity of mesenchymal stem cells». *Trends. Mol. Med.*, 18: 128-134.
- GIANNOUKAKIS, N.; PHILLIPS, B.; FINEGOLD, D.; HARNHA, J.; TRUCCO, M. (2011). «Phase I (safety) study of autologous tolerogenic dendritic cells in type 1 diabetic patients». *Diabetes Care*, 34: 2026-2032.
- GNECCHI, M.; ZHANG, Z.; NI, A.; DZAU, V. J. (2008). «Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy». *Circ. Res.*, 103: 1204-1219.
- GRIEGER, J. C.; SAMULSKI, R. J. (2012). «Adeno-associated virus vectorology, manufacturing, and clinical applications». *Methods. Enzymol.*, 507: 229-254.
- HACEIN-BEY-ABINA, S.; KALLE, C. VON; SCHMIDT, M.; MCCORMACK, M. P.; WULFRAAT, N.; LEBOLUCH, P.; LIM, A.; OSBORNE, C. S.; PAWLIUK, R.; MORILLON, E.;

- SORENSEN, R.; FORSTER, A.; FRASER, P.; COHEN, J. I.; SAINT BASILE, G. de; ALEXANDER, I.; WINTERGERST, U.; FREBOURG, T.; AURIAS, A.; STOPPA-LYONNET, D.; ROMANA, S.; RADFORD-WEISS, I.; GROSS, F.; VALENSI, F.; DELABESSE, E.; MACINTYRE, E.; SIGAUX, F.; SOULIER, J.; LEIVA, L. E.; WISSLER, M.; PRINZ, C.; RABBITTS, T. H.; DEIST, F. LE; FISCHER, A.; CAVAZZANA-CALVO, M. (2003). «LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1». *Science*, 302: 415-419.
- HIGHFILL, S. L.; RODRIGUEZ, P. C.; ZHOU, Q.; GOETZ, C. A.; KOEHN, B. H.; VEENSTRA, R.; TAYLOR, P. A.; PANOSKALTSIS-MORTARI, A.; SERODY, J. S.; MUNN, D. H.; TOLAR, J.; OCHOA, A. C.; BLAZAR, B. R. (2010). «Bone marrow myeloid-derived suppressor cells (MDSC) inhibit graft-versus-host disease (GVHD) via an arginase-1-dependent mechanism that is up-regulated by interleukin-13». *Blood*, 116: 5738-5747.
- HO, V. T.; SOIFFER, R. J. (2001). «The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation». *Blood*, 98: 3192-3204.
- KANG, S. K.; SHIN, I. S.; KO, M. S.; JO, J. Y.; RA, J. C. (2012). «Journey of mesenchymal stem cells for homing: strategies to enhance efficacy and safety of stem cell therapy». *Stem Cells Int.*, 2012: 342968.
- LAIOSA, C. V.; STADTFELD, M.; XIE, H.; ANDRES-AGUAYO, L. de; GRAF, T. (2006). «Reprogramming of committed T cell progenitors to macrophages and dendritic cells by C/EBP alpha and PU.1 transcription factors». *Immunity*, 25: 731-744.
- LOPEZ-HOLGADO, N.; LOPEZ-VILLAR, O.; SANCHEZ-GUIJO, F. M.; CANIZO, M. C. DEL (2012). «Cell-production units for stem cell clinical research: basic aspects for their development and optimization». *Med. Clin. (Barc.)*, 138: 31-36.
- LUPO-STANGHELLINI, M. T.; PROVASI, E.; BONDANZA, A.; CICERI, F.; BORDIGNON, C.; BONINI, C. (2010). «Clinical impact of suicide gene therapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation». *Hum. Gene Ther.*, 21: 241-250.
- MARIANI, E.; FACCHINI, A. (2012). «Clinical applications and biosafety of human adult mesenchymal stem cells». *Curr. Pharm. Des.*, 18: 1821-1845.
- MEZEY, E.; CHANDROSS, K. J.; HARTA, G.; MAKI, R. A.; MCKERCHER, S. R. (2000). «Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow». *Science*, 290: 1779-1782.
- MOIANI, A.; PALEARI, Y.; SARTORI, D.; MEZZADRA, R.; MICCIO, A.; CATTOLIO, C.; COCCHIARELLA, F.; LIDONNICI, M. R.; FERRARI, G.; MAVILIO, F. (2012). «Lentiviral vector integration in the human genome induces alternative splicing and generates aberrant transcripts». *J. Clin. Invest.*, 122: 1653-1666.
- NATHWANI, A. C.; TUDDENHAM, E. G.; RANGARAJAN, S.; ROSALES, C.; MCINTOSH, J.; LINCH, D. C.; CHOWDARY, P.; RIDDELL, A.; PIE, A. J.; HARRINGTON, C.; O'BEIRNE, J.; SMITH, K.; PASI, J.; GLADER, B.; RUSTAGI, P.; NG, C. Y.; KAY, M. A.; ZHOU, J.; SPENCE, Y.; MORTON, C. L.; ALLAY, J.; COLEMAN, J.; SLEEP, S.; CUNNINGHAM, J. M.; SRIVASTAVA, D.; BASNER-TSCHAKARJAN, E.; MINGOZZI, F.; HIGH, K. A.; GRAY, J. T.; REISS, U. M.; NIENHUIS, A. W.; DAVIDOFF, A. M. (2011). «Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B». *N. Engl. J. Med.*, 365: 2357-2365.
- OTT, M. G.; SCHMIDT, M.; SCHWARZWAELDER, K.; STEIN, S.; SILER, U.; KOEHL, U.; GLIMM, H.; KUHLMCKE, K.; SCHILZ, A.; KUNKEL, H.; NAUNDORF, S.; BRINKMANN, A.; DEICHMANN, A.; FISCHER, M.; BALL, C.; PILZ, I.; DUNBAR, C.; DU, Y.; JENKINS, N. A.; COPELAND, N. G.; LUTHI, U.; HASSAN, M.; THRASHER, A. J.; HOELZER, D.; KALLE, C. VON; SEGER, R.; GREZ, M. (2006). «Correction of X-linked chronic granulomatous disease by gene therapy, augmented by insertional activation of MDS1-EVII, PRDM16 or SETBP1». *Nat. Med.*, 12: 401-409.
- PALUCKA, K.; BANCHEREAU, J. (2012). «Cancer immunotherapy via dendritic cells». *Nat. Rev. Cancer*, 12: 265-277.
- POURNASR, B.; KHALOUGHI, K.; SALEKDEH, G. H.; TONONCHI, M.; SHAHBAZI, E.; BAHARVAND, H. (2011). «Concise review: alchemy of biology: generating desired cell types from abundant and accessible cells». *Stem Cells*, 29: 1933-1941.
- RESTIFO, N. P.; DUDLEY, M. E.; ROSENBERG, S. A. (2012). «Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response». *Nat. Rev. Immunol.*, 12: 269-281.
- SAKAGUCHI, S.; SAKAGUCHI, N.; ASANO, M.; ITOH, M.; TODA, M. (1995). «Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases». *J. Immunol.*, 155: 1151-1164.
- SARIC, T.; HESCHELER, J. (2008). «Stem cells and nuclear reprogramming». *Minim. Invasive Ther. Allied Technol.*, 17: 64-78.
- SETHE, S. C. «The implications of "advanced therapies" regulation». (2010). *Rejuvenation. Res.*, 13: 327-328.
- SIMONELLI, F.; MAGUIRE, A. M.; TESTA, F.; PIERCE, E. A.; MINGOZZI, F.; BENNICELLI, J. L.; ROSSI, S.; MARSHALL, K.; BANFI, S.; SURACE, E. M.; SUN, J.; REDMOND, T. M.; ZHU, X.; SHINDLER, K. S.; YING, G. S.; ZIVIELLO, C.; ACERRA, C.; WRIGHT, J. F.; MCDONNELL, J. W.; HIGH, K. A.; BENNETT, J.; AURICCHIO, A. (2010). «Gene ther-

- apy for Leber's congenital amaurosis is safe and effective through 1.5 years after vector administration». *Mol. Ther.*, 18: 643-650.
- SNOWDEN, J. A.; SACCARDI, R.; ALLEZ, M.; ARDIZZONE, S.; ARNOLD, R.; CERVERA, R.; DENTON, C.; HAWKEY, C.; LABOPIN, M.; MANCARDI, G.; MARTIN, R.; MOORE, J. J.; PASSWEG, J.; PETERS, C.; RABUSIN, M.; ROVIRA, M.; LAAR, J. M. van; FARGE, D.; PARTY, E. A. D. W.; PAEDIATRIC DISEASES WORKING, P. (2012). «Haematopoietic SCT in severe autoimmune diseases: updated guidelines of the European Group for Blood and Marrow Transplantation». *Bone Marrow Transplant.*, 47: 770-790.
- STRAUER, B. E.; STEINHOFF, G. (2011). «10 years of intracoronary and intramyocardial bone marrow stem cell therapy of the heart: from the methodological origin to clinical practice». *J. Am. Coll. Cardiol.*, 58: 1095-1104.
- TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. (2006). «Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors». *Cell*, 126: 663-676.
- THOMSON, J. A.; ITSKOVITZ-ELDOR, J.; SHAPIRO, S. S.; WAKNITZ, M. A.; SWIERGIEL, J. J.; MARSHALL, V. S.; JONES, J. M. (1998). «Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts». *Science*, 282: 1145-1147.
- TOLAR, J.; VILLENEUVE, P.; KEATING, A. (2011). «Mesenchymal stromal cells for graft-versus-host disease». *Hum. Gene Ther.*, 22: 257-262.
- TRZONKOWSKI, P.; BIENIASZEWSKA, M.; JUSCINSKA, J.; DOBYSZUK, A.; KRZYSTYNIAK, A.; MAREK, N.; MYSLIWSKA, J.; HELLMANN, A. (2009). «First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4⁺CD25⁺CD127⁻ T regulatory cells». *Clin. Immunol.*, 133: 22-26.
- VIERBUCHEN, T.; OSTERMEIER, A.; PANG, Z. P.; KOKUBU, Y.; SUDHOF, T. C.; WERNIG, M. (2010). «Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors». *Nature*, 463: 1035-1041.
- WANG, S.; QU, X.; ZHAO, R. C. (2011). «Mesenchymal stem cells hold promise for regenerative medicine». *Front. Med.*, 5: 372-378.
- WU, C.; DUNBAR, C. E. (2011). «Stem cell gene therapy: the risks of insertional mutagenesis and approaches to minimize genotoxicity». *Front. Med.*, 5: 356-371.
- WU, X. B.; TAO, R. (2012). «Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells». *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.*, 11: 360-371.
- XU, W.; ZHANG, X.; QIAN, H.; ZHU, W.; SUN, X.; HU, J.; ZHOU, H.; CHEN, Y. (2004). «Mesenchymal stem cells from adult human bone marrow differentiate into a cardiomyocyte phenotype *in vitro*». *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 229: 623-631.
- YIN, B.; MA, G.; YEN, C. Y.; ZHOU, Z.; WANG, G. X.; DIVINO, C. M.; CASARES, S.; CHEN, S. H.; YANG, W. C.; PAN, P. Y. (2010). «Myeloid-derived suppressor cells prevent type 1 diabetes in murine models». *J. Immunol.*, 185: 5828-5834.

SOBRE L'AUTOR

Jordi Barquinero (Reus, 1959) va fer la residència de medicina interna a l'Hospital Universitari Vall d'Hebron i es va doctorar a la Universitat Autònoma de Barcelona amb premi extraordinari. Els seus treballs van contribuir a la descripció d'una nova malaltia, la síndrome antifosfolipídica primària. Va fer estades a la Universitat de Louisville i al Fred Hutchinson Cancer Research Center (Seattle, EUA). Ha estat col·laborador en els suplementes científics de *La Vanguardia* i ha escrit llibres de divulgació científica. El 1995 s'incorporà com a investigador a l'Institut de Recerca Oncològica, i des de 2001 és el responsable de l'Àrea de Teràpia Gènica i Cel·lular de l'Institut de Recerca Vall d'Hebron. Les seves línies de recerca actuals són els models preclínics de teràpia gènica per a malalties hereditàries i per induir tolerància en malalties autoimmunitàries. Els seus treballs han contribuït a entendre millor el paper de la mieloablació en l'empelt de cèl·lules hematopoètiques transduïdes, els factors que determinen la immunogenicitat d'aquestes, i l'efecte tolerogènic de cèl·lules mieloides supressores que es generen en els cultius hematopoètics. La seva recerca ha rebut finançament de manera continuada durant els darrers divuit anys i ha estat autor o coautor en més de setanta publicacions científiques.