

# Archivos de Cardiología de México

Volumen  
*Volume* 72

Suplemento  
*Supplement* 1

Enero-Marzo  
*January-March* 2002

*Artículo:*

## Terapia del gen en cardiología

Derechos reservados, Copyright © 2002:  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

### Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

### *Others sections in this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Medigraphic.com

## Terapia del gen en cardiología

David Jay\*

### Resumen

La modificación del material genético en células vivas con fines terapéuticos es un campo que ha experimentado un progreso significativo durante la última década. Aunque ha sido criticada como una disciplina que ha ofrecido mucho y realizado poco, recientemente se han logrado resultados sobresalientes en procedimientos clínicos que aseguran que esta percepción no es correcta. A pesar de la alta incidencia de enfermedades cardiovasculares, el número de protocolos en terapia genética, aprobados para uso humano es bajo. Esto se ha debido en parte a la disponibilidad de procedimientos terapéuticos alternativos para las vasculopatías más comunes. Sin embargo, avances recientes en el entendimiento de las bases genéticas y moleculares del sistema cardiovascular han abierto la posibilidad de introducir la terapia del gen en el manejo de una gran variedad de desórdenes cardiovasculares. El propósito de esta comunicación es el de resumir los progresos en esta área.

**Palabras clave:** Terapia del gen (o genética). Vectores virales. Vectores no virales. Reestenosis. Trombosis. Angiogénesis.

**Key words:** Gene therapy. Viral vectors. Non-viral vectors. Restenosis. Thrombosis. Angiogenesis.

### Introducción

La modificación del material genético en células vivas con fines terapéuticos es un campo que ha experimentado un progreso significativo durante la última década. Aunque ha sido criticada como una disciplina que ha ofrecido mucho y realizado poco, recientemente se han logrado resultados sobresalientes en procedimientos clínicos que aseguran que esta percepción no es correcta.<sup>1</sup> El juicio final dependerá de los resultados que se obtengan durante el tiempo necesario para que esta tecnología alcance un nivel de madurez adecuado. En general se puede definir a la terapia del gen (TG) como el tratamiento con base genética de enfermedades heredadas o adquiridas. Aunque en un principio

### Summary

#### GEN THERAPY IN CARDIOLOGY

The modification of genetic material of living cells for therapeutic purposes have been regarded by many as an unrealized promise. However, recent successful achievements in the field have contributed to vanish this perception and have reopened the possibility to use gene therapy as a medical intervention in humans. In the case of cardiovascular diseases, and despite its high prevalence, the number of approved human gene therapy protocols has remained low. This may be due, at least in part, to the availability of effective alternative therapies for some of the most common vasculopathies. However, recent advances in the understanding of the genetic and molecular bases of the cardiovascular system have opened the possibility to introduce gene therapy in the management of a great variety of cardiovascular disorders. The purpose of this communication is to briefly summarize the progress in this area.

se propuso para tratar desórdenes heredados mediante la transferencia de la copia de un gen normal a un paciente portador de un gen defectuoso y así evitar el desarrollo de la enfermedad; actualmente la mayoría de tratamientos genéticos han sido diseñados para enfermedades adquiridas.

En lo referente a los padecimientos cardiovasculares, el número de protocolos aprobados para uso humano utilizando TG también ha ido en aumento. Esto se ha debido principalmente al avance en los campos tanto de la tecnología de ADN recombinante y biología celular como en la angioplastía percutánea que han permitido la transferencia de material genético a la pared vascular. Debido a que la TG representa una forma

\* Departamento de Biomedicina Cardiovascular.

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" (INCICH, Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, Tlalpan, 14080 México, D. F.).

**Tabla I.** Enfermedades vasculares potencialmente tratables con TG.

Enfermedad	Ejemplo de gen responsable
Aterosclerosis	HDL
Estados hipercuagulables	Activador tisular de plasminógeno
Restenosis después de angioplastía	Genes reguladores del ciclo celular
Rechazo de transplante	Moléculas de adhesión leucocitarias
Vasculopatías por transplante	Citocinas
Angiogénesis	Factor de crecimiento vascular endotelial
Trombosis	Factor tisular
Aneurisma aórtico	Inhibidor de proteasa

relativamente nueva y hasta cierto punto riesgosa de terapia farmacológica se han definido una serie de criterios que justifiquen su aplicación. En primer lugar, los genes involucrados en el establecimiento del padecimiento tienen que estar identificados y caracterizados de tal manera que se tenga un conocimiento razonable de las bases genéticas de la enfermedad. Además, debido a que la TG está aún asociada con riesgos potenciales, su uso se justifica únicamente cuando no existen terapias alternativas. Por último, es necesario desarrollar modelos animales y preclínicos que determinen tanto la seguridad (toxicidad) como la eficacia del método (capacidad de llevar, integrar y regular la información genética). A pesar del gran número de enfermedades cardiovasculares, sólo para unas cuantas se ha aprobado la TG. Para otras, como hipertensión, existe terapia alternativa y/o no se conocen las bases genéticas de la enfermedad. La *Tabla I* presenta una lista de las enfermedades vasculares potencialmente tratables con TG.

### **Vectores usados para transferir material genético**

En este sentido, diversos vectores se han desarrollado, cada uno de los cuales tiene sus riesgos y ventajas. Entre los primeros vectores utilizados para estudios de transferencia de genes a arterias *in vivo*<sup>2</sup> están los retrovirus (vectores derivados del RNA-virus de la leucemia de roedores de Moloney) que más recientemente se utilizaron con éxito en dos casos de inmunodeficiencia combinada severa ligada al cromosoma X.<sup>3</sup> Debido a que este vector inserta sus genes en el genoma del huésped, cualquier gen añadido al vector se expresará por un periodo prolongado. Además de ser efectivo y fácil de replicar, no produce respuesta inmune significativa. Una desventaja es que sólo se incorpora al genoma de células que se reproducen activamente lo cual repre-

senta un inconveniente en el caso del endotelio vascular y los cardiomiacitos. Otra desventaja importante es que se incorpora en posiciones aleatorias del genoma de tal manera que existe la posibilidad tanto de crecimiento maligno, al activar proto-oncogenes (mutagénesis por inserción), como de transmisión de su material genético a las células germinales. Los adenovirus han sido otros de los vectores ampliamente utilizados. Es un ADN-virus común que afecta el tránsito respiratorio y ojos en humanos. Estos vectores son fáciles de producir en el laboratorio y no necesitan células replicantes para expresar su genoma. Además, no se insertan de manera aleatoria en el genoma, lo que reduce el riesgo de mutagénesis por inserción. Entre las desventajas de este vector está la intensa respuesta inflamatoria que puede producir la expresión de algunos de los genes virales. Además existe el riesgo de replicación viral. Otro de los vectores virales que se han comenzado a utilizar en protocolos de TG en humanos es el de virus asociados a adenovirus (VAA). El VAA es un ADN-virus de cadena sencilla que no está asociado a ninguna patología en humanos a pesar de los altos niveles de infección silenciosa que se llegan a encontrar. Son virus deficientes en su capacidad de replicación que necesitan de la presencia de adenovirus o herpes virus para facilitar esta función. La incapacidad de estos virus para replicarse no representa un obstáculo para que los viriones puedan insertar su material genético en el genoma de la célula infectada aun en ausencia del virus facilitador. Entre las ventajas de este vector por lo tanto se encuentran el hecho de que no es patogénico, tiene menor riesgo de mutagénesis por inserción y puede infectar células no replicantes. Sin embargo, es difícil elaborar títulos altos de este virus y no se sabe del efecto a largo plazo de la inserción del provirus en el genoma humano.

Aunque los virus representan sistemas eficientes de transferencia de material genético a las células, tienen ciertas limitaciones; especialmente aquellas asociadas a los riesgos potenciales aun no identificados y al relativamente alto costo de su elaboración. Por esta razón, se han desarrollado sistemas alternativos para la transferencia de material genético. Entre estos sistemas se encuentran cierto tipo de bicapas lipídicas artificiales (liposomas) capaces de combinarse con la membrana celular y enviar ácidos nucleicos al interior de las células. Otro sistema alternativo hace uso de los oligonucleótidos anti-sentido. Aquí, el objetivo no es el de producir un gran número de copias de la proteína de interés sino, más bien, bloquear la expresión o actividad de la proteína involucrada en la patología. De esta manera se utilizan fragmentos cortos de ADN o ARN que son complementarios a secuencias específicas del gen considerado. Una opción más está dada por las ribozimas que son pequeñas moléculas de ARN con actividad catalítica de endorribonucleasa capaces de atacar moléculas específicas de ARN (mensajeros específicos).

### **Modelos de enfermedad vascular tratados con TG**

Usando los vectores aquí descritos se han desarrollado distintos protocolos de TG para diversas afecciones cardiovasculares. Entre éstas se encuentran la reestenosis posterior a angioplastía, trombosis asociada a implantes vasculares y terapia por angiogénesis.

Reestenosis posterior a angioplastía. La angioplastía coronaria transluminal percutánea (ACTP)

es un procedimiento común para el tratamiento de la isquemia miocárdica secundaria a aterosclerosis. La estenosis recurrente (reestenosis) después de ACTP ocurre, sin embargo, en cerca de un 50% de casos dentro de los siguientes seis meses posteriores al tratamiento. Aquí, la implantación de stents reduce dramáticamente la incidencia de reestenosis. Sin embargo, ésta puede ocurrir aun en cerca de 10% de casos posteriores al stent. La *Tabla II* muestra las causas y tratamientos de la reestenosis.

En estos casos, se ha encontrado que el uso de oligonucleótidos antisentido para atenuar la expresión de genes reguladores del ciclo celular (c-myb, c-myc) inhibe la hiperplasia de la íntima.<sup>4,5</sup> Así mismo, el envío y sobreexpresión en el endotelio del gen que codifica para la óxido nítrico sintasa disminuye la proliferación celular del músculo liso.<sup>6</sup> Además, el envío local del gen que codifica para el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) también disminuye la hiperplasia de la íntima al acelerar la regeneración endotelial.<sup>7,8</sup>

En el caso de la trombosis asociada a implantes y daño vascular, la transducción ex-vivo de células endoteliales cultivadas *in vitro* con un vector retroviral portador del cADN del activador de plasminógeno tisular (t-PA) reduce la formación de trombos *in vivo* cuando estas células son reintroducidas al organismo. Así, estas moléculas antitrombóticas pueden evitar el cierre trombótico por implantes mecánicos cardivascularres (stents) o por daño vascular posterior a angioplastía.<sup>9</sup>

Por último, la insuficiencia arterial crónica puede resultar en angina pectoris, infarto del mio-

**Tabla II.** Causas y tratamientos de la reestenosis.

Causas:	Tratamiento:
Retracción vascular:	Dispositivos mecánicos: stents.
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aguda (ocurre en minutos): debida a las propiedades elásticas de la arteria.</li> <li>- Subaguda (ocurre en semanas): debida a remodelamiento vascular constrictivo.</li> </ul>	
Hiperplasia de la íntima:	Intervención molecular (TG).
Ocurre n 10% de caso posteriores al stent. Es una respuesta al daño vascular que involucra trombosis, inflamación, migración de células musculares lisas, proliferación y secreción de matriz extracelular	

cardio, apoplejía, claudicación y gangrena de extremidades. En muchos casos la revascularización quirúrgica no es factible debido al daño vascular severo y difuso. Aquí, la clonación de genes que codifican para factores angiogénicos y la posibilidad de introducirlos a la pared vascular ha abierto la posibilidad de terapia por neovascularización.

A este respecto ya existen protocolos aprobados para uso humano en los cuales el cADN que codifica para el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) puede ser introducido en un plásmido a la vasculatura mediante un catéter de balón. La aprobación de este procedimiento está basada

en el mal pronóstico para estos pacientes y en la existencia de modelos animales confiables.<sup>8,10</sup>

### Conclusiones

La TG es un campo nuevo y en rápido crecimiento dentro de la cardiología. Se ha basado en el avance de la biología celular y molecular y de técnicas intervencionistas que han permitido la transferencia de material genético a la pared vascular. Mediante esta transferencia es posible sobre-expresar o inhibir la producción de proteínas específicas. Antes de que se pueda aplicar de manera generalizada es necesario resolver preguntas sobre su eficacia, estabilidad, costo y seguridad.

### Referencias

1. TRISHA G: *After a Setback, Gene Therapy Progresses.* Science 2001; 291: 1692-1697.
2. NABEL EG, PLAUTZ G, BOYCE FM, STANLEY JC, NABEL GJ: *Recombinant gene expression in vivo within endothelial cells of the arterial wall.* Science 1989; 244: 1342-1344.
3. CAVAZZANA-CALVO M, HACEIN-BEY S, DE SAINT BASILE G, GROSS F, YVON E, NUSBAUM P, ET AL: *Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease.* Science 2000; 288: 627-629.
4. ROQUE F, MON G, BELARDI J, RODRIGUEZ A, GRINFELD L, LONG R, ET AL: *Safety of intracoronary administration of c-myc antisense oligomers after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA).* Antisense Nucleic Acid Drug Dev 2001; 11: 99-106.
5. MANNION JD, ORMONT ML, MAGNO MG, O'BRIEN JE, SHI Y, ZALEWSKI A: *Sustained reduction of neointima with c-myc antisense oligonucleotides in saphenous vein grafts.* Ann Thorac Surg 1998; 66: 1948-1952.
6. VON DER LEYEN HE, DZAU VJ: *Therapeutic potential of nitric oxide synthase gene manipulation.* Circulation 2001; 103: 2760-2765.
7. FREEDMAN SB, ISNER JM: *Therapeutic angiogenesis for ischemic cardiovascular disease.* J Mol Cell Cardiol 2001; 33: 379-393.
8. BAUMGARTNER I, ISNER JM: *Somatic gene therapy in the cardiovascular system.* Annu Rev Physiol 2001; 63: 427-450.
9. DICHEK DA, ANDERSON J, KELLY AB, HANSON SR, HARKER LA: *Enhanced in vivo antithrombotic effects of endothelial cells expressing recombinant plasminogen activators transduced with retroviral vectors.* Circulation 1996; 93: 301-309.
10. ISNER JM, WALSH K, SYMES J, PIECZEK A, TAKESHITA S, LOWRY J, ET AL: *Arterial gene therapy for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease.* Circulation 1995; 91: 2687-2692.

