



## Terapia génica

Olga Lidia Vera Lastra\*

### RESUMEN

La terapia génica es una estrategia terapéutica que implica la introducción de material genético en los pacientes, con la finalidad de corregir las deficiencias celulares expresadas en el fenotipo y sanar enfermedades hereditarias o adquiridas. La terapia génica es de gran esperanza para los pacientes que padecen alguna alteración genética u otra enfermedad ya que se puede sustituir el gen alterado por otro normal. La transferencia de genes se realiza por medio de vectores; estos son sistemas que se utilizan en el proceso de transferencia de un gen exógeno a la célula facilitando la entrada y la biodisponibilidad intracelular del mismo. Los vectores se dividen en 1) virales: retrovirus, adenovirus, virus adenoasociados y otros; 2) no virales: bombardeo de partículas, inyección directa de ADN, liposomas catiónicos, transferencia mediante receptores, entre otros. Las principales aplicaciones de la terapia génica son: 1) enfermedades hereditarias: hemoglobinopatías, inmunodeficiencias, etc; 2) cáncer; 3) enfermedades autoinmunitarias: artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico; y 4) otras como las infecciones: SIDA, las cardiopatías isquémicas y otras. Muchas de las enfermedades genéticas y adquiridas son potencialmente tratables con terapia génica; sin embargo, esta terapéutica ha tenido grandes dificultades. Se han realizado estudios de fase I y II con diversos vectores virales y no virales, pero hay problemas por resolver, como la eficacia y la respuesta inmunitaria del huésped, además de su inocuidad. La terapia génica sigue siendo la esperanza para el tratamiento futuro de varias enfermedades. Se espera que el progreso de la tecnología y los nuevos vectores mejorarán la eficacia e inocuidad de esta terapia.

**Palabras clave:** terapia génica, vectores virales, vectores no virales, cáncer, artritis reumatoide, SIDA, cardiopatía isquémica.

### ABSTRACT

Gene therapy (GT) is a therapeutic strategy characterized by introduction of genetic material into a patient with the goal of correcting cellular deficiencies expressed at phenotype level and to cure hereditary and acquired diseases. GT constitutes a great hope for patients who suffer some genetic disturbance or any other disease, since an altered gene can be replaced by a normal one: The transfer of genes is made through vectors, which are systems used in the process of transferring one exogen gene into a cell, facilitating the entrance and intracellular bioavailability of it. Vectors can be classified as follows 1) viral as the retrovirus, adenovirus, adeno-associated virus and others. 2) Non-viral as the particle-mediated uptake, direct injection of DNA, cationic liposomes, transfer through receptors, among others. The main applications of GT are: 1) Inherited disorders: hemoglobinopathies, hereditary immunodeficiency, etc., 2) cancer, 3) autoimmune diseases: Rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, and 4) others like infections (AIDS), ischemic cardiopathy. Many of the genetic and acquired disease are potentially treatable by GT. However, this treatment has had great difficulties. Some studies phase I and II with diverse viral and non-viral vectors have been performed; but yet these are many problems that need to be solved like the efficiency and the host immune response as well as its safety. GT is still a hope for the future treatment of many diseases. It is expected that with the development of technology and new vectors, the efficiency and safety of GT viral improve.

**Key words:** gene therapy, viral vectors, non viral vectors, cancer, rheumatoid arthritis, AIDS, ischemic cardiopathy.

**L**a terapia génica es una estrategia para el tratamiento de diferentes enfermedades hereditarias, infecciosas, cáncer, autoinmunitarias, entre otras. Esta terapia está vinculada con

diferentes áreas médicas, como la biología molecular, la genética, la virología, la bioquímica y la biofísica que hacen posible su progreso.

La terapia génica implica la introducción de material genético en los pacientes, con la finalidad de corregir las deficiencias celulares expresadas en el fenotipo para sanar las enfermedades hereditarias o adquiridas. Esta terapia incluye a la transferencia génica con el propósito médico de prevención, diagnóstico y terapéutica.<sup>1</sup>

\* Médico internista y reumatóloga. Jefa del servicio de medicina interna del Hospital de Especialidades Antonio Fraga Mouret, Centro Médico Nacional La Raza. IMSS. Profesora del curso de especialización en Medicina Interna, UNAM.

Correspondencia: Dra. Olga Lidia Vera Lastra. Medicina Interna, Hospital de Especialidades Antonio Fraga Mouret, Centro Médico Nacional La Raza. Seris y Saachila s/n, colonia La Raza, CP 02990, México, DF. E mail:olgavera62@yahoo.com.mx  
Recibido: noviembre, 2005. Aceptado: febrero, 2006.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

### DESARROLLO DE LA TERAPIA GÉNICA

Varios descubrimientos en la biología molecular han contribuido al progreso de la terapia génica. Al inicio,

se efectuó la introducción de genes en levaduras y células de mamíferos en cultivos tisulares; posteriormente, la experimentación en ratones. Mediante la técnica del ADN recombinante, éste se inyecta e incorpora a los cromosomas de algunas células embrionarias, seguido de la proliferación y diferenciación en células tisulares adultas. Se han realizado estudios en los que el ADN extraño puede incorporarse a la línea germinal. Con la clonación de los genes fue posible microinyectar el ADN deseado en embriones de ratón. El desarrollo de ratones transgénicos y los transgenes (ADN inoculado a estos ratones) ha sido un avance muy importante en la terapia génica.<sup>2</sup>

MÉTODOS DE TRANSFERENCIA DE GENES

Los métodos de transferencia de genes se dividen en: 1) métodos ex vivo, en la que los genes se transfieren a células que posteriormente se introducen en el paciente; y 2) métodos in vivo, donde los genes se introducen directamente en los tejidos.

La transferencia de genes se realiza por medio de vectores. Estos son sistemas útiles en el proceso de transferencia de un gen exógeno a la célula, que facilitan la entrada y la biodisponibilidad intracelular del mismo. Los vectores se dividen en virales y no virales.<sup>3,4</sup> El cuadro 1 muestra las características de los métodos de transferencia de genes.

Vectores virales

Los más estudiados son los retrovirus, los adenovirus, los virus adenoasociados y el herpes virus, entre otros.

Retrovirus

Los retrovirus contienen ARN de cadena sencilla como genoma viral. Durante el ciclo viral, el ARN se transcribe a la inversa para producir ADN de cadena doble (mediante la acción de la enzima transcriptasa reversa) que se integra al genoma de la célula hospedadora y se expresa en periodos prolongados. El genoma de los retrovirus incluye tres genes estructurales: el gag (antígeno específico de grupo), el pol (enzima transcriptasa reversa polimerasa) y el env (proteína de la envoltura del virus).<sup>5,6</sup>

La mayor parte de los retrovirus pueden integrarse sólo en las células que se replican, aunque el virus

Cuadro 1. Comparación de métodos de transferencia génica

Perfil	Retrovirus	Adenovirus	VAA**	No virales
Eficiencia del gen transferido*	Moderada	Alta	Moderada	Baja
Estable vs. transitorio	Estable	Transitoria	Estable	Transitorio
Expresión del gen	Variable¶	Variable¶	Variable¶	Variable
Inmunogenicidad	Baja	Moderado	Baja	Baja
Toxicidad in vitro	Baja	Baja	Baja	Baja
Títulos	Bajo	Altos	Ver comentarios	-
Comentarios	Requiere replicación celular	Disminución de la inmunogenicidad	Preparaciones con títulos altos es difícil; requiere replicación viral.	Fácil de producir, menor seguridad

\* Puede ser variable dependiendo del tipo celular.  
¶ La expresión genética depende de los promotores específico y del tipo de células.  
\*\* VAA: virus adenoasociado.

de la inmunodeficiencia humana parece ser la excepción. Esta propiedad de los retrovirus restringe su uso como vector en la terapia génica. Los retrovirus tienen importancia por la capacidad de producir tumores en animales.<sup>5,6</sup>

Adenovirus

Los adenovirus contienen ADN, su genoma es grande y de organización más compleja que la de los retrovirus. Los adenovirus ocasionan infecciones de las vías respiratorias, la conjuntiva y el conducto urinario e intestinal. En la actualidad, se estudian como vectores genéticos para la terapia génica y para inmunizaciones contra otros agentes patógenos.<sup>7</sup>

Los vectores de los adenovirus son más grandes y complejos que los retrovirus y los virus adenoasociados. La principal ventaja de los vectores de adenovirus, es su capacidad de transferir el gen episomal de forma eficiente en varios tejidos y células, fáciles de producir en grandes cantidades. La desventaja es que la respuesta del hospedador al virus puede limitar la duración de la expresión y la capacidad de repetir la dosis.<sup>7</sup>

### Virus adenoasociados (VAA)

Los virus adenoasociados son pequeños, simples, no autónomos y contienen ADN lineal de cadena sencilla. Estos virus requieren de la coinfección con adenovirus u otros para replicarse. La organización de su genoma es simple e incluye dos genes: el rep (proteínas implicadas en la replicación) y el cap (proteínas estructurales).

Los vectores (base) de los virus adenoasociados son simples y contienen sólo las secuencias víricas de repeticiones terminales. La producción de los vectores de estos virus es amplia y lleva consigo la introducción en la célula hospedadora, no sólo del propio vector, sino también de un plásmido que codifica rep y cap para suministrar las funciones del virus ayudante.

La ventaja de los vectores de los virus adenoasociados es su capacidad de expresión a largo plazo en células que no se dividen, quizá porque el ADN vírico lo integra. Desde el punto de vista estructural, los vectores son simples y pueden provocar menos respuesta en la célula hospedadora que los adenovirus. La desventaja es que los vectores son difíciles de producir en grandes cantidades.<sup>8</sup>

### Herpes virus

La familia Herpesviridae incluye al herpes simple, el Epstein-Barr, varicela zoster y el citomegalovirus; compuestos de ADN bicatenario.

Las ventajas de los vectores génicos del herpesvirus son su capacidad de llevar grandes secuencias insertadas de ADN extraño, y su aptitud para ocasionar infecciones latentes de larga duración, en las cuales el genoma del virus es un episoma con efectos no aparentes en la célula hospedadora. Como los retrovirus, el grupo de herpes virus (herpesvirus- $\gamma$ ) tiene el potencial de distribuir genes a células pluripotentes y a su progenie diferenciada. La desventaja para el uso de estos virus en la terapia génica, es que los herpesvirus- $\gamma$  se relacionan con efectos linfoproliferativos y en algunos casos malignidad. En contraste con los gamma-herpes virus, el virus del herpes simple y otros alfa-herpesvirus es que no pueden mantener una infección latente en células en división. Algunos problemas de estos vectores son la dificultad de mantener la expresión prolongada del gen terapéutico y la eficiencia de la infección es más o menos baja cuando se le compara con otros sistemas

virales. En la actualidad, el herpes simple se estudia como vector en la terapia génica.<sup>3</sup>

Vectores no virales: este método incluye el bombardeo de partículas, la inyección directa de ADN, los liposomas catiónicos, la transferencia de genes mediante receptores, los receptores de asialoglicoproteínas, entre otros.

Bombardeo de partículas: es un método efectivo, donde se transfieren genes in vitro e in vivo, en el cual el plásmido de ADN se cubre (1-3  $\mu$  de diámetro) con gotas de tungsteno. Estas partículas son aceleradas por la descarga eléctrica (de un aparato o por pulso) y se disparan al tejido.

La técnica menos invasora es con el bombardeo de partículas directo sobre la piel. La fuerza física del impacto supera la barrera de la membrana celular; sin embargo, las características de rigidez de los diferentes tejidos, la procedencia del ADN extraño y la capacidad de transcripción intrínseca ocasionan grandes variaciones en la expresión de los genes en conjunto. Los experimentos en la epidermis de rata, los tejidos musculares, el hígado y el páncreas, han demostrado que el ADN extraño de las células no se integra al genoma de las células hospedadoras, ya que es un episoma relativamente inestable. Esto puede tener aplicaciones limitadas en la terapia génica.<sup>3,9</sup>

Inyección directa del ADN: por este método, el ADN o ARN se inyecta de manera directa en el tejido deseado. Este es un método simple, económico y no tóxico comparado con la infección mediante el virus. Tiene como ventaja importante llevar largas cadenas de ADN; sin embargo, los niveles y persistencia de la expresión de los genes son cortos (ocho días). Esta tecnología puede ser potencial como procedimiento de vacunación y expresión de genes a un nivel bajo, suficiente para obtener respuesta inmunológica.<sup>3</sup>

Liposomas catiónicos: esta técnica se basa en las propiedades de cargas eléctricas catiónicas del ADN, de los lípidos catiónicos y de la superficie celular. Similar a la función de las histonas (proteínas con carga positiva que compactan el ADN), los lípidos catiónicos interactúan con las cargas negativas del ADN y lo condensan. El exceso de cargas negativas permite a los transportadores catiónicos la interacción (mediante enlaces electrostáticos) con las cargas negativas que tiene la membrana celular.

Transferencia de genes mediante receptores: con esta técnica, lo mismo que en los vectores víricos, se trasplantan al transportador de los ligandos las moléculas que reconocen los receptores del tipo celular elegido.

## **ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS DE LA TRANSFERENCIA GÉNICA**

### **Estrategias *ex vivo***

Este tratamiento incluye la obtención previa de células de un tejido u órgano del paciente. Después, se hace la separación de las células y se cultivan en tejidos *in vitro* y las células son transfectadas por el gen terapéutico utilizando un vector. Las células transfectadas se seleccionan en función de su capacidad para expresar el gen exógeno de forma estable y persistente. Las células seleccionadas se amplifican, se recolectan y se reimplantan en el paciente.<sup>1,2</sup>

### **Estrategias *in vivo***

Este tratamiento consiste en la administración sistémica de la construcción génica de interés. Aunque el ADN puede administrarse de manera directa, por lo general se utilizan vectores que facilitan el proceso de transferencia del gen y permitan la entrada y localización intracelular del mismo, de tal manera que se obtenga un gen funcional. Es importante usar vectores con destinos específicos dentro del organismo para permitir la entrega celular selectiva del gen en un determinado órgano o tejido, sin requerir procedimientos quirúrgicos.<sup>1,3</sup>

### **Otras estrategias**

La terapia génica implica la manipulación de las células mediante procedimientos que reparen e incorporen nuevos genes a la célula, así como bloquear e inhibir la sobreexpresión de los mismos con propósitos terapéuticos. Estas estrategias incluyen: oligonucleótidos antisentido, reparación génica mediante oligonucleótidos, ribozimas, entre otras.<sup>1,3</sup>

### **Oligonucleótidos antisentido**

Los oligonucleótidos son secuencias cortas de ácidos nucleicos diseñados para unirse a secuencias específicas de ADN o ARN. Los oligonucleótidos antisentido

son complementarios de secuencias específicas de determinado ARN mensajero (secuencia antisentido). Las estrategias antisentido tienen gran potencial terapéutico para inhibir la expresión de genes en padecimientos como el cáncer, autoinmunitarios e infecciosos (SIDA). Sin embargo, la utilidad clínica se ve limitada porque su vida media es corta en la circulación sistémica y por la dificultad de acceder con actividad funcional al citoplasma o al núcleo celular.<sup>10,11</sup>

### **Reparación génica mediante oligonucleótidos**

Esta técnica efectúa la reparación de genes cuya alteración se origina por mutación puntual conocida; el propósito es activar de manera selectiva los mecanismos celulares de reparación del ADN en el sitio de la mutación.

### **Ribozimas**

El término ribozima se refiere a las moléculas de ARN con actividad enzimática. Se han identificado varias enzimas con actividad catalítica que reaccionan con sustratos de ARN. Estas reacciones ejecutan la ruptura y unión de las cadenas en sitios específicos. Las ribozimas necesitan iones metálicos con carga divalente (como el magnesio), para participar en la reacción química. Diferentes centros catalíticos de la ribozima se incorporan al ARN antisentido y le dan la capacidad de aparearse con el ARN diana (sustratos para dichos centros) en sitios específicos. Una vez que la célula diana se fragmenta, la ribozima puede disociarse de estos productos y repetir el ciclo de unión, fragmentación y disociación. La capacidad de las ribozimas para fragmentar células dianas y después reciclarlas, proporciona ventajas sobre los ARN antisentido estándar.<sup>11</sup>

La terapia génica se subdivide en la transferencia génica de células somáticas (transferencia de células diploides normales) y la transferencia de células de línea germinal (transferencia de células haploides del aparato reproductor: espermias u óvulos). Las implicaciones éticas relacionadas con la transferencia génica en la línea germinal son más complejas que las de la transferencia génica de células somáticas, debido a que la transferencia génica no sólo implica el tratamiento de las enfermedades, sino de la progenie.<sup>12</sup>

## APLICACIONES DE LA TERAPIA GÉNICA

La terapia génica constituye una gran esperanza para los pacientes afectados por alguna alteración genética. Estas técnicas pueden sustituir el gen alterado por uno normal; sin embargo, es necesario conocer las alteraciones moleculares de las enfermedades genéticas y decidir si son factibles de tratamiento con la terapia génica. El gen en estudio debe clonarse e introducirlo con seguridad en las células.

A continuación se mencionan algunas aplicaciones de la terapia génica en diferentes áreas de la medicina: 1) enfermedades hereditarias; 2) cáncer; 3) enfermedades autoinmunitarias; y 4) otras.

### Terapia génica en las enfermedades hereditarias

Los padecimientos hereditarios se consideran enfermedades potenciales de recibir terapia génica somática ya que se ha demostrado que el trasplante de médula ósea tiene funciones curativas. Éstas incluyen las hemoglobinopatías, las inmunodeficiencias hereditarias y, en general, las alteraciones que tienen como resultado el reemplazo de una enzima o proteínas ausentes o con mal funcionamiento<sup>13</sup> (cuadro 2).

**Cuadro 2.** Enfermedades hereditarias susceptibles de terapia génica

Enfermedad	Gen defectuoso
Inmunodeficiencia combinada grave	Adenosina deaminasa
Citrulinemia	Argininosuccínico sintetasa
Enfisema	$\alpha$ -1-antitripsina
Deficiencia de adhesión leucocitaria	CD-18
Fibrosis quística	Regulador transmembranal
Hemofilia B	Factor IX
Hemofilia A	Factor VIII
Fucosidosis	$\alpha$ -L-Fucosidasa
Gaucher	Glucocerebrosidasa
Mucopolisacaridosis VII	$\beta$ -glucosidasa
Talasemia	$\beta$ -globina
Anemia de células falciformes	$\beta$ -globina
Mucopolisacaridosis	$\alpha$ -L-iduronidasa
Hipercolesterolemia familiar	Receptor transcarbamilasa
Hiperamonemia	Ornitina transcarbamilasa
Niemann-Pick	Esfingomielinasa

#### *Inmunodeficiencia combinada grave*

La inmunodeficiencia combinada, secundaria a la deficiencia de la enzima adenosina deaminasa, fue la primera enfermedad en que se realizó la terapia génica.

Además de ser una enfermedad que puede curarse mediante el trasplante de médula ósea, es una enfermedad monogénica que resulta mortal si no se encuentra donador compatible de médula ósea o de no iniciar el tratamiento sustitutivo. El tejido hematopoyético se extrae y manipula in vivo y vuelve a reintroducirse. En 1990, investigadores del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos comenzaron a utilizar la terapia génica para tratar pacientes con inmunodeficiencia combinada grave ocasionada por mutaciones en el gen adenosina deaminasa. Se utilizó la terapia génica para restaurar los linfocitos T con la enzima no mutada adenosina deaminasa. Para este tratamiento utilizaron los linfocitos T de los pacientes y se les introdujo el gen humano de la enzima usando un vector retroviral; posteriormente se reimplantaron las células que contenían el gen de la enzima no mutada a los pacientes. Este tratamiento se repitió de uno a dos meses durante un año y demostró eficacia terapéutica.<sup>14</sup>

#### *Fibrosis quística*

La fibrosis quística es una alteración monogenética que se manifiesta como enfermedad multistémica. Los primeros síntomas y signos se manifiestan en la infancia; sin embargo, en 3% de los pacientes se diagnostica en la edad adulta. La enfermedad se distingue por infección crónica de las vías respiratorias que evolucionan a bronquiectasias, insuficiencia pancreática exocrina, funcionamiento anormal de las glándulas sudoríparas y disfunción urogenital.

La fibrosis quística es una enfermedad autosómica recesiva que resulta de la mutación de un gen localizado en el cromosoma 7. La mutación más frecuente del gen de la fibrosis quística es la pérdida de tres pares de bases que dan lugar a la ausencia de fenilalanina en la posición del aminoácido 508 del producto proteico de este gen, conocido como regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator). La proteína CFTR es un polipéptido que funciona como canal de cloro regulado por el AMP-cíclico. Esta proteína está en la membrana plasmática del epitelio, por lo que los epitelios afectados por la fibrosis quística muestran funciones diferentes a su estado normal.<sup>14</sup>

El gen de la fibrosis quística es importante en la terapia génica. Estudios in vivo describieron anor-



malidades en la conductancia de los canales de cloro, ya que la línea celular de la fibrosis quística expresó el mismo defecto. Esta línea celular se utilizó en investigaciones que estudiaron la actividad del gen introducido en la célula. Para estos estudios se utilizaron vectores retrovirales. Se construyó un ADN complementario para el gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (ocasionado por la sobreposición de tres clones de este ADN), así como la clonación de un ADN complementario completo en un vector retroviral. Las células de la fibrosis quística fueron infectadas por un vector retroviral que llevó un gen regulador transmembrana de la fibrosis quística y se seleccionó la célula con el provirus integrado con resistencia al G418. Las células expresaron el gen regulador transmembrana de la fibrosis quística y los resultados se midieron con el grado de funcionamiento de los canales del cloro. La característica importante es que el flujo aniónico de las células (en respuesta a la estimulación de la adenilato ciclasa) proporciona conductancia semejante para el cloro. En ausencia de determinado estimulador de la adenilato ciclasa, se pierde el flujo aniónico de las células de la fibrosis quística que contienen el gen regulador transmembrana introducido. Si se adiciona el activador de la adenilato ciclasa, aumenta el flujo rápidamente en las células de fibrosis quística con regulador transmembrana, pero en las células de la fibrosis quística el flujo permanece bajo.<sup>15</sup>

Se han identificado otras enfermedades pulmonares como blancos potenciales para la terapia génica; estas incluyen la deficiencia de alfa-1 antitripsina, la cual es una enfermedad ocasionada por mutación genética.<sup>16</sup>

Los vectores virales (adenovirus y virus adenoasociados) se han relacionado con respuesta inflamatoria rápida y duración limitada de expresión en el pulmón. Los vectores no virales (los liposomas) se estudian con eficiencia limitada y cierta toxicidad. La finalidad es mejorar la terapia génica con vectores virales como los adenovirus y los virus adenoasociados, entre otros.<sup>17</sup>

### Terapia génica y cáncer

El concepto actual de la terapia génica implica que las enfermedades hereditarias pueden tratarse con

una copia normal del mutante o del gen suprimido en la célula huésped. El concepto de la terapia génica (como complementación), se ha cambiado por un aspecto más general que comprende cualquier estrategia que use material genético para prevenir o curar algunas enfermedades que incluyan alteraciones genéticas somáticas y multifactoriales, como el cáncer. Debido a esto, la terapia génica representa cerca del 68% de los protocolos de investigación que se realizan en todo el mundo. Sin embargo, los primeros resultados de los ensayos clínicos indican que se deben investigar con mayor ahínco ciertos aspectos claves antes de incluir la terapia génica como estándar en el tratamiento del cáncer. Los problemas más importantes a considerar son la baja eficiencia y la falta de eficacia de los sistemas de genes transferidos. Estos aspectos son relevantes con la aplicación de sistemas de vectores no replicativos (o aún replicativos) con los cuales puede existir toxicidad impredecible.<sup>18</sup>

### Eficacia y seguridad de la terapia génica en el cáncer

El concepto de terapia génica se origina de nuevos conocimientos en la biología molecular del cáncer y la compleja interacción entre las células tumorales y el sistema inmunitario. Estos conocimientos se utilizan para producir estrategias en el tratamiento del cáncer o la estimulación de la respuesta inmunitaria contra antígenos tumorales. Se han revisado múltiples avances terapéuticos y resultados de los ensayos clínicos de la terapia génica en el cáncer<sup>19,20</sup> (cuadro 3) y no han sido satisfactorios; sin embargo, se siguen realizando esfuerzos para mejorar las fuentes de transferencia génica y los genes terapéuticos.

**Cuadro 3.** Estrategias terapéuticas empleadas en terapia génica en cáncer

Inmunoterapia	45%
Genes múltiples	18%
Gen suicida	14%
Supresión tumoral	14 %
Quimioprotección	4%
Oncolisis	3%
Inhibición del oncogén	2%

Las estrategias y perspectivas de los ensayos clínicos en la terapia génica se han afectado por dos acontecimientos: la muerte del primer paciente tratado

con terapia génica y los primeros éxitos clínicos de ésta.<sup>21</sup> El primer evento trágico fue la muerte en 1999 de un paciente de 18 años con deficiencia de ornitina transcarbamilasa, incluido en el estudio de la Universidad de Pensilvania.<sup>22</sup> Esta muerte expresó los riesgos potenciales relacionados con la transferencia génica y la necesidad de registrar los efectos adversos. Este paciente se trató con adenovirus no replicativos que portaban el gen para ornitina transcarbamilasa.<sup>23</sup> Los efectos de la administración de este tratamiento fueron: fiebre transitoria, mialgias, incremento de las enzimas hepáticas, aumento de citocinas, hipofosfatemia, trombocitopenia y anemia.<sup>24</sup> Sin embargo, el paciente al que se le administraron dosis altas de esta terapia, manifestó síntomas respiratorios leves que evolucionaron a síndrome de insuficiencia respiratoria progresiva del adulto y muerte. El informe del National Institute Recombinant Advisory Committee<sup>25</sup> atribuyó la muerte del paciente a síndrome de choque, inducido por el vector del adenovirus, ocasionado por la activación de las citocinas y subsiguiente coagulación intravascular diseminada, síndrome de insuficiencia respiratoria progresiva del adulto y falla orgánica múltiple. El estudio posmortem demostró aplasia de médula ósea y se sugirió que las altas dosis del vector adenoviral saturaron los receptores disponibles para éste, además de la diseminación del virus a todos los órganos y tejidos, induciendo respuesta inmunitaria sistémica.<sup>26</sup>

Las primeras pruebas satisfactorias de la terapia génica en humanos fueron la inyección recombinante de vectores virales adenoasociados en pacientes con hemofilia<sup>27</sup> y la terapia génica en niños con inmunodeficiencia combinada severa ligada al X (X-SCID), vía transducción de células tallo hematopoyéticas.<sup>28,29</sup>

Después de los ensayos preclínicos que demostraron la corrección del fenotipo de la hemofilia (en animales), hubo éxito en la transducción y expresión en tres pacientes con hemofilia B a quienes se les aplicó la inyección del vector con virus adenoasociados que codificaron el factor X de coagulación. El procedimiento fue seguro y se observó leve mejoría de las condiciones clínicas.<sup>27</sup> En el segundo estudio, 4 de 5 niños con inmunodeficiencia combinada severa (ligada al X por deficiencia de la cadena  $\gamma$  c), se trataron con células autólogas del tallo de la médula ósea

y transducidas ex vivo con el gen  $\gamma$ c, que corrigió la inmunodeficiencia a largo plazo.<sup>28,29</sup> Sin embargo, el optimismo generado por los resultados de la transferencia génica disminuyó por los efectos adversos que se observaron con la terapia de inmunodeficiencia combinada severa. Debido a esto, la Food and Drug Administration American Society of Gene Therapy, solicitó que se realizaran otros ensayos clínicos en Estados Unidos.<sup>30</sup> Dos de 11 niños tratados en este ensayo, manifestaron síndrome similar a leucemia de células T después de tres años de la terapia génica. En ambos casos la leucemia fue, quizá, consecuencia de ontogénesis insercional ocasionada por el vector insertado dentro o cerca del gen (LMO-2), ligado a leucemia de células T.<sup>31-35</sup> Esta complicación de leucemia no se ha informado en otros estudios.

#### *Seguridad de los ensayos clínicos en la terapia génica del cáncer*

Aunque la ventaja significativa de la terapia génica en el cáncer no se ha demostrado por completo, existen hechos positivos que surgen de la seguridad sustancial en pacientes tratados con este método (cuadro 4).

La mayor parte de los ensayos clínicos se basa en la administración intratumoral de vectores recombinantes para la transferencia génica, y no así en los vectores sistémicos. La inyección intratumoral de partículas de vectores (o vectores virales) ha demostrado seguridad en estos métodos con leve morbilidad. Se informa dolor leve y sangrado en el sitio de inyección en 50% de los pacientes con la inoculación del vector.<sup>36-41</sup> Se han observado diferentes efectos adversos y toxicidad de varios vectores relacionados con las dosis y el sitio de administración de éstos. Los más frecuentes son la fiebre y el escalofrío (de los vectores adenovirales) después de la administración intratumoral a dosis altas<sup>42-46</sup> (cuadro 4). La inoculación intracerebral de los vectores retrovirales (para el tratamiento del glioblastoma multiforme) muestra hemorragia subaracnoidea y vasculitis aséptica.<sup>47</sup> Los pacientes en fase terminal de tumores malignos manifiestan confusión, hiponatremia, convulsiones y signos de toxicidad del sistema nervioso central con la inyección de vectores adenovirales.<sup>48,49</sup> La inyección intratumoral a dosis altas de vacunas recombinantes con vectores virales ocasiona síntomas de resfriado común e inflamación

**Cuadro 4.** Efectos adversos de la terapia génica en ensayos clínicos en cáncer

Protocolo	Gen/vector/ruta	Fase	Núm. de pacientes	Tipo de tumor	Efectos adversos	Respuesta
Antígenos de histocompatibilidad	HLAB7/Liposomas/Intra-tumoral	I	5	Melanoma estadio IV	No	1 RC
	HLA-B7/Liposomas /Intra-tumoral	I	9	Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello	No	4RP
Inmunoterapia y vacunas	IL-2/Adenovirus/ex vivo/inyección	I	15	Melanoma estadio IV	Eritema, induración y prurito en el sitio de la inyección	3 RP
	IL-2/adenovirus/intratut-moral	I	12	Cáncer localizado de próstata	Linfopenia, malestar perineal, hematuria y síndrome gripal.	Disminución significativa del PSA.
	IL-2/Células tumor autólo-go/inyección ex vivo	I	12	Melanoma estadio IV	Fiebre leve y cefalea	3 EE.
	IL-2/citocinas autólogas/ex vivo /iv	I	10	Cáncer renal metastásico, carcinoma colorrectal, linfoma	Fiebre en 3	1 RC (linfoma) 9 3EE, 6 EP
	IL-2 en fibroblastos autólogos+células tumorales autólogas/ex vivo/sc	I	10	Carcinoma colorrectal	Fiebre, síndrome gripal en 7 hipersensibilidad retardada en 5	1 EE, 9EP
	IL-2 en línea celular tumoral alogénica/exvivo/SC	I/II	52	Melanoma (18), Carcinoma renal (17), Sarcoma (17)	Síntomas generales leves en 27 rigidez grado 3 en 1, dolor en el sitio de inyección 23	3RP (2 cáncer renal, 1 melanoma), EE (2 cáncer renal, 3 melanoma, 6 sarcoma)
	IL-7/arma genética ex vivo SC	I	10	Melanoma estadio IV	Fiebre leve.	Respuesta < en 2
	INF/γ/retrovirus/ex vivo SC	I	5	Melanoma estadio IV	No	RC
	p53/adenovirus/intratut-moral	I	21	Cáncer pulmonar de células no pequeñas	Fiebre en 8, dolor en sitio de inyección 1	RP en 2, EE en 2, <EP en 4 y ND en 1.
	P53/adenovirus/intratut-moral	I	15	Cáncer pulmonar de células no pequeñas	No efectos tóxicos	EE en 4.
Terapia génica supresora de tumor	P53/adenovirus/intratut-moral + QT	II	25	Cáncer pulmonar de células no pequeñas	Fiebre leve, síntomas de resfriado, náusea, fatiga.	No efectos significativos sobre la QT.
	P53/adenovirus/intratut-moral/intravesical + cistotomía	I	12	Cáncer de vejiga	Irritación uretral o vesical	No evaluado
	P53/adenovirus/IP + QT	I/II	36	Cáncer ovárico recurrente	Fiebre, hipotensión, dolor abdominal, náusea, vómito	> del 50% reducción de CA 125 en 8.
	P53 adenovirus/intratut-moral	I	27	Cáncer pulmonar de células no pequeñas	Toxicidad mínima	2RP, 16 EE, 7EP
	P53/adenovirus/intratut-moral + cirugía	I	15	Gliomas recurrentes	Hemiparesia grado III en 1, afasia en 2, cefalea en 53%, fatiga 40% fiebre 27%	Promedio de supervivencia libre de progresión 13 semanas, mediana de la supervivencia global 43 semanas
	BRCA1/retrovirus/ip	I	12	Cáncer de ovario	Peritonitis estéril 3	3 RP y 8 EE
Supresión onco-génica	Tratamiento de células tumorales con oligonucleótidos antisentido IGF-IR	I	12	Astrocitoma anaplásico,	trombosis venosa profunda	RC en 2, RP en 4
	Anticuerpos anticadena simple anti erb-B2	I	15	Cáncer de ovario	Fiebre transitoria en 9.	5 EE, 8 EP.
Terapia del gen suicida	HSV-TK/retrovirus/intratut-moral	I	15	Glioblastoma recurrente	No efectos	RP en 3 y RC en 1.



## Continuación del cuadro 4

Oncolisis	HSV-TK/retrovirus/intratumoral + cirugía	I/II	48	Glioblastoma recurrente	Convulsiones 1, hidrocefalia 1	RP en 4.
	HSV-TK/adenovirus/intratumoral	I	13	Glioblastoma recurrente	Transitorios en SNC	EE en 3
	HSV-TK/retrovirus/intratumoral	III	124	Glioblastoma	Hematoma cerebral, tromboembolismo, complicaciones asociadas a catéter venoso central por la infusión de ganciclovir	No diferencias significativas con el grupo control
	HSV-TK/adenovirus/intratumoral	I	18	Carcinoma de próstata	Toxicidad mínima en 4, trombocitopenia severa y hepatotoxicidad en 1	Respuesta en 1.
	HSV-TK/retrovirus/intratumoral	I/II	8	Melanoma estadio IV	Inflamación en el sitio de inyección	EP en 8
	CYP2B1 en células HEK293/exvivo/células encapsuladas IV	I/II	14	Carcinoma de páncreas	No efectos	RP en 2, RM en 2, EE en 10.
	d/1520/adenovirus/intratumoral	I	22	Cáncer recurrente de cabeza y cuello	Fiebre, náusea y escalofríos	RP en 3
	d/1520/adenovirus/intratumoral	I	3	Carcinoma hepatocelular	No referidos	No reportada
	d/1520/adenovirus/arteria intra hepática o IV	I	6	Cáncer de colon metastásico	1 fiebre	6 EE, 1EP
	d/1520/adenovirus/arteria intrahepática + QT	II	5	Carcinoma hepatocelular	Fiebre transitoria en 3, hipotensión en 2	1 RP, 4EP
		I/II	21	Carcinoma pancreático avanzado	Síntomas de gripa, elevación de lipasa, sepsis en 2, perforación duodenal en 2	2 RP, 6 EE, 11 EP
	d/1520/adenovirus/intratumoral + QT	II	37	Cáncer recurrente de cabeza y cuello	Dolor en el sitio de inyección y síntomas gripales	8 RC, 1 RP
	DI1520/adenovirus/arteria intrahepática + QT	II	27	Carcinoma gastrointestinal, metástasis hepática	Síntomas gripales leves en 25, reacción inflamatoria sistémica y hepatotoxicidad severa en 1	3 RP, 9 EE, 11EP
	CN706/adenovirus/intratumoral	I	20	Cáncer de próstata recurrente	Fiebre de leve a moderada en 15, dolor en el sitio de inyección 14, hematuria microscópica en 20	Reducción de APE mayor a 30 en 13, incluyendo 4 de RP
	γ34.5 células nulas/G207 herpes virus/intratumoral	I	21	Glioblastoma recurrente (16) Astrocitoma anaplásico (5)	No	8 RP

RC: respuesta completa; RP: respuesta parcial; RM: respuesta mixta; EE: enfermedad estable; EP: progresión de la enfermedad; QT: quimioterapia; SNC: sistema nervioso central; PSA: antígeno prostático específico; IV: intravenoso, SC: subcutáneo; IP: intraperitoneal.

local con formación de pústulas;<sup>50,51</sup> se ha descrito, además, leve a moderada toxicidad después de la administración intralesional del complejo HLA-B7β2-microglobulina DNA-liposoma en pacientes con melanoma metastásico.<sup>23</sup>

El seguimiento de 102 pacientes tratados con dosis bajas a intermedias en forma local (de vectores adenovirales), tuvo incidencia de efectos adversos

del 0.7% sin relación de muertes secundarias con los vectores.<sup>50</sup> La incidencia de malignidad no fue mayor a lo esperado en la población. El análisis de los factores de riesgo (efectos adversos) en pacientes tratados con terapia biológica con los vectores adenovirales, demostró que los parámetros relacionados con el vector (al incluir la dosis, la vía de administración, el transgen o el número de

administración de los vectores), no pronostican los efectos adversos.

### Eficacia de la terapia génica en el cáncer

A pesar de los antecedentes de respuesta terapéutica en diversos pacientes, faltan pruebas sustentables de la eficacia clínica en la terapia génica del cáncer. Los avances en la terapia génica del cáncer, incluyendo la inmunoterapia, el reemplazo de genes supresores, genes suicidas, terapia de activación prodruga e inmunoterapia, son los que muestran mejores resultados, ya que afectan en menor grado las limitaciones relacionadas con el título y transducción del vector.<sup>51</sup>

Después de una década de ensayos clínicos en la terapia génica del cáncer, los resultados no han sido satisfactorios del todo, ya que sólo demuestran eficacia antitumoral mínima. Sin embargo, las modalidades terapéuticas son inocuas con toxicidad leve relacionada con la terapia. La administración de la terapia génica se considera útil y segura en el análisis de costo-beneficio en pacientes con tumores resistentes al tratamiento convencional.

### Enfermedades autoinmunitarias

La terapia génica también se utiliza en enfermedades autoinmunitarias con procesos patogénicos complejos y manifestaciones heterogéneas, como la artritis reumatoide y el lupus eritematoso,<sup>52,53</sup> a excepción de los pacientes con defectos genéticos únicos (en genes para el Fas ligando o para factores del complemento C4, C2 o C1q) relacionados con manifestaciones autoinmunitarias (enfermedades multifactoriales).<sup>54</sup> La terapia génica implica la reconstitución del gen alterado y esperar el tratamiento coadyuvante para estas enfermedades. La corrección de las enfermedades inmunorreguladoras es un propósito fundamental para el tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias.

Las intervenciones terapéuticas en enfermedades autoinmunitarias se enfocan en varios puntos: se requiere equilibrio en el control de los procesos patogénicos de la respuesta inmunitaria y el control de las funciones reguladoras de ésta. Las terapias relacionadas con las vías generales de activación inmunitaria o de amplificación, no son específicas de antígeno y pueden aplicarse a múltiples enfermedades, además de tener el riesgo de inmunosupresión

general. Las terapias de antígeno específico son mucho más selectivas y menos dañinas porque se requieren conocimientos previos de blancos inmunológicos precisos, relevantes en enfermedades autoinmunitarias. Las citocinas, los antagonistas de citocinas, los anticuerpos monoclonales de células T, los inhibidores de transducción de señales y los agentes farmacológicos convencionales fallan en el primer grupo; mientras que los antígenos peptídicos específicos, los antagonistas y el complejo mayor de histocompatibilidad están en el último grupo de tratamiento<sup>55,56</sup>

### Enfermedades autoinmunitarias supresoras mediante la neutralización de IFN- $\gamma$

El ratón MRL-Fas<sup>lpr</sup> tiene mutaciones en el gen Fas que ocasiona deficiencias en la apoptosis linfocitaria, linfoproliferación, alteraciones inmunorreguladoras y manifestaciones similares al lupus, la artritis y la vasculitis. La reintroducción del Fas en los animales corrige la mayor parte de estas alteraciones.<sup>57</sup> Se ha intentado diseñar genes que puedan revertir la enfermedad, para corregir el gen ausente en las enfermedades autoinmunitarias. Se tienen datos de la función importante de una proteína quimérica que incluye la forma soluble del receptor de IFN- $\gamma$ , unido a la región Fc de la IgG. La primera parte de la proteína quimérica bloquea la acción del IFN- $\gamma$ , mientras que la segunda ayuda a estabilizar la proteína en la circulación. El diseño de esta molécula se hizo en animales knock-out y el tratamiento con anticuerpos anti-IFN- $\gamma$ , demostró que el IFN- $\gamma$  propagó la autoinminidad. Los ratones tratados en etapas tempranas de la vida mostraron alteraciones sexuales, afectación renal y mayor supervivencia. Además, los ratones tratados en forma tardía durante el curso de la enfermedad, tuvieron ventajas significativas.

La terapia génica implica la inserción y expresión de ADN extraño en la célula huésped. Por lo general, los vectores virales sirven como transportadores efectivos para insertar el ADN en la célula (por transducción); sin embargo, cada sistema tiene ventajas y desventajas. En muchos estudios en humanos y animales murinos, los retrovirus modificados se han utilizado ante la falta de una o más proteínas estructurales virales.

La encefalitis alérgica experimental es un modelo de inflamación del sistema nervioso central que se

manifiesta después de la inmunización con la proteína básica de mielina y es similar a la esclerosis múltiple. Las células CD4+ Th2 pueden suprimir la enfermedad. Ésta puede revertirse por la inyección de células de antígeno específico transferida con vectores retrovirales que codifican IL-4<sup>58</sup> y el receptor soluble de TNF,<sup>59</sup> TGF- $\beta$ -1,<sup>60</sup> o IL-10 con el control del promotor de IL-2.<sup>61</sup> Todos los estudios muestran éxito con la terapia génica. De igual manera, la transferencia de IL-10 traducida por linfocitos Th-1, específica de los islotes de Langerhans, previene la diabetes en ratones diabéticos no obesos.<sup>62</sup>

La terapia génica se considera de forma amplia en el tratamiento de la artritis en modelos animales.<sup>63</sup> Los ejemplos incluyen la administración intraarticular de la IL-4 (como vector un retrovirus) que disminuyó la inflamación en ratones con artritis.<sup>64</sup> y la aplicación de IL-13 suprimió la artritis inducida por colágeno en estos animales.<sup>65</sup>

Las citocinas tienen funciones pleiotrópicas y cuando sus condiciones no son fisiológicas pueden afectar el sistema inmunitario y otros tejidos. En forma contraria, inhiben la acción del IFN- $\gamma$  y disminuyen la capacidad para eliminar los virus.<sup>66</sup>

#### *Artritis reumatoide*

La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmunitaria crónica de causa desconocida que afecta las pequeñas y grandes articulaciones y puede cursar con manifestaciones sistémicas; es una enfermedad con alta morbilidad y mortalidad que disminuye la calidad de vida. La artritis reumatoide se distingue por la proliferación e inflamación de la membrana sinovial con destrucción de los tejidos periarticulares. La artritis reumatoide es influida por los linfocitos T activados que se infiltran en la membrana sinovial y ocasionan procesos inflamatorios, que dan como resultado la proliferación sinovial y vascular con resorción del cartílago y del hueso.<sup>67</sup>

Aunque en los últimos años se han realizado avances en la patogenia de la enfermedad, el tratamiento de la artritis reumatoide ha tenido cambios importantes. Muchos pacientes requieren la combinación de diferentes medicamentos, como antiinflamatorios no esteroides, antirreumáticos (modificadores de la enfermedad) y esteroides. Estos esquemas terapéuticos

retrasan el progreso de la enfermedad en algunos pacientes; pero en otros existen respuestas inadecuadas a dichos tratamientos, como la destrucción progresiva del cartílago articular y del hueso. Esto hizo necesario la búsqueda de nuevos tratamientos que incluyeron la terapia biológica, la cual interfiere de manera específica con la inflamación inducida por las citocinas. De esta manera, se utilizan tratamientos con anticuerpos monoclonales contra el factor de necrosis tumoral y las proteínas de fusión contra el receptor de dicho factor, para lograr el éxito terapéutico.<sup>68-70</sup>

La inhibición de procesos patogénicos (claves en la membrana sinovial reumatoidea) es una meta importante de la terapia génica. La transferencia o la terapia génica son posibles soluciones de tratamiento para resolver el problema de la expresión de genes a largo plazo y reemplazar la aplicación frecuente de proteínas recombinantes. Sin embargo, en la actualidad, la terapia génica en el tratamiento de las enfermedades reumáticas no ha logrado grandes ventajas debido a los efectos adversos en humanos, la complejidad de la fisiopatología y los avances en la transferencia génica. Las células dendríticas, los linfocitos y las células tallo totipotenciales pueden usarse también como vehículos para el transporte de genes. Las investigaciones en los modelos animales prueban que la aplicación de vectores virales ejerce efectos terapéuticos adicionales en las articulaciones cercanas y dan la alternativa de la transferencia de animales a humanos. Las estrategias futuras analizarán el potencial de los vectores de expresión, como los lentivirus y el citomegalovirus en los ensayos clínicos de la artritis reumatoide.<sup>71</sup>

Los estudios experimentales de la artritis reumatoide demuestran y reconocen la coexistencia de los antígenos, la inhibición de las células T, el bloqueo de las señales coestimuladoras en la superficie de la célula, las señales de activación nuclear, la interferencia con la migración de linfocitos hacia la membrana sinovial y la reducción de los mediadores de destrucción articular. Estas alteraciones pueden estudiarse y tratarse con la terapia génica, mediadores de la respuesta biológica y con la terapéutica clásica de esta enfermedad.<sup>72</sup>

La artritis inducida por el colágeno tipo II tiene una función importante en el progreso de nuevas técnicas terapéuticas para el tratamiento de la enfermedad.

Este modelo muestra mecanismos autoinmunitarios relevantes en la patogenia de la artritis, al permitir el estudio de la transferencia génica como alternativa terapéutica, así como el de la inhibición de citocinas y la compleja interacción que regula la respuesta inmunitaria del colágeno.<sup>72</sup>

La artritis reumatoide (en modelos animales) demuestra que la inflamación de la articulación sinovial destruye el cartílago articular y hace que se pierda la función. Las citocinas proinflamatorias, en particular el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y la interleucina -1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tienen función importante en la patogénesis de la enfermedad. Estudios en animales y cultivos in vitro que usaron proteínas recombinantes, demostraron que el TNF es un potente mediador proinflamatorio y la IL-1 es un potente mediador catabólico del cartílago. La función principal de las citocinas en la artritis reumatoide se ha establecido con los estudios de ratones transgénicos. La sobreexpresión del TNF (humano) en ratones manifiesta signos destructivos de la artritis. La artritis transferida en modelos transgénicos puede bloquearse con anticuerpos contra el receptor de IL-1 e implicar que la IL-1 sea la citocina esencial en la patogenia de la enfermedad. En la actualidad existen muchos estudios que indican que la IL-1 y el TNF son los mayores blancos en la terapéutica de la artritis reumatoide.<sup>73</sup>

El uso de la terapia génica en la artritis experimental (artritis inducida por colágena) ha demostrado resultados satisfactorios en la modulación de la IL-1 y el TNF mediante receptores antagonistas de IL-1Ra, IL-4 e IL-10. El efecto de los diferentes vectores virales, la expresión transgénica controlada y las estrategias que aumenten la eficacia de la transfección, mejorarán con la terapia génica local.<sup>74</sup>

Se han realizado estudios experimentales con la terapia génica que utilizan antagonistas del receptor IL-1 mediante vectores adenovirales (aplicada en forma local en animales con artritis inducida por el colágeno), y se observan resultados satisfactorios. También se han utilizado otros virus como vectores para evaluar la sobreexpresión de la IL-1Ra.<sup>73,74</sup>

Los hallazgos en animales con artritis (inducida por el colágeno) señalan que la terapia génica es una estrategia importante en el tratamiento de la enfermedad mediante el uso de anti-citocinas, como la IL-1Ra,

la IL-4 y la IL-10 administradas en las articulaciones. En la artritis inducida por colágeno, la liberación continua de IL-1Ra previene el inicio o la curación de la enfermedad. Con la transferencia génica local se pueden obtener altas concentraciones de IL-1Ra para el tratamiento. La sobreexpresión local de IL-1Ra reduce la incidencia y gravedad de la artritis, así como su destrucción. La terapia génica demuestra función antiinflamatoria con el antirreceptor soluble del TNF en fases tempranas, pero no en fases avanzadas. La combinación de la terapia génica contra el TNF y la IL-1, es buena alternativa terapéutica a futuro.<sup>73,74</sup> Se ha demostrado que la terapia génica es capaz de modificar el curso de la enfermedad en modelos animales con artritis. Se considera que la transferencia génica (en la membrana sinovial) es una herramienta útil y factible para modificar el curso de la artritis en los modelos animales.<sup>74</sup>

#### Otras enfermedades ideales para terapia génica (cuadro 5)

##### infecciones

La terapia génica es una alternativa en el tratamiento de algunas infecciones, como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

**Cuadro 5.** Otras enfermedades candidatas a terapia génica

<i>Enfermedad</i>	<i>Estrategia de terapia génica</i>
<b>Cardiovasculares</b>	
Reestenosis coronaria	Bloqueo de la proliferación celular en la pared de los vasos.
Enfermedad vascular periférica	Inducción de angiogénesis
Hipertensión arterial sistémica	Expresión de genes (Kalikreína) para inducir vasodilatación
<b>Neurológicas</b>	
Enfermedad de Parkinson	Expresión de genes necesarios para la síntesis de L-dopa.
Enfermedades neurodegenerativas	Expresión de factores neurotróficos.
<b>Infecciosas</b>	
Infección viral	Expresión de genes para bloquear la replicación viral o sus funciones, incluyendo ribozimas

El SIDA mata millones de personas en todo el mundo. Las vacunas contra el virus de la inmunode-

ficiencia humana (VIH) no prometen nada aún. Los tratamientos antirretrovirales que existen, no siempre son efectivos y hay aumento en la prevalencia de las cepas virales con multiresistencia. La terapia antirretroviral altamente activa consiste en inhibidores de enzimas virales (transcriptasa reversa y proteasas). La terapia génica se utilizó, en primera instancia, como inmunización intracelular; puede usarse sola, o en combinación con el tratamiento convencional. La terapia génica contra el VIH-1 incluye genes suicidas, tecnología relacionada con ARN (ribozimas), proteínas virales dominantes negativas, anticuerpos intracelulares, intracinas y péptidos, entre otras.<sup>75</sup>

Su finalidad es proteger las células residuales no infectadas y eliminar las células infectadas. Sin embargo, lo que se pretende es reducir la infección en personas con este padecimiento y evitar la expansión del virus a toda la población.

El ciclo viral del VIH tiene aspectos vulnerables que pueden atacarse con métodos genéticos (transcripción y translación) que se realizan por las funciones de la célula huésped y quizá la inhibición significativa lleve a la muerte celular. Los procesos específicos del virus se utilizan como puntos de inicio e incluyen: la entrada a la célula, la transcripción inversa o la integración. La interacción entre los ATN tat y rev con proteínas son aspectos vulnerables, al igual que el empaquetamiento del ARN genómico.

En estos casos, la terapia génica utiliza la transferencia de las células blanco para hacerlas resistentes al virus de la inmunodeficiencia humana. Se ha intentado la administración de genes resistentes al VIH mediante células totipotenciales hematopoyéticas que sean resistentes al virus.<sup>76</sup>

Los avances en el funcionamiento viral intracelular (en las células infectadas para producir un vector genético terapéutico) pueden ser alternativas para reducir las cargas virales o la infección total del virus, mientras se propaga el vector terapéutico. Los estudios que se basaron en el modelo del virus de la inmunodeficiencia en simios, demostraron que la función biológica retroviral preexistente (en las células infectadas por el virus de la inmunodeficiencia en simio), ocasiona la expresión de la ribozima pol anti-virus de la inmunodeficiencia simiica (VIS) y moviliza el vector para transducirlo a las células vecinas.<sup>77</sup>

### *Cardiopatía isquémica*

La cardiopatía isquémica es la principal causa de muerte en todo el mundo y la terapia génica (local o sistémica) experimental es de gran expectativa para la prevención y tratamiento de varias enfermedades cardiovasculares, como la aterosclerosis, la dislipidemia, la cardiopatía isquémica, la cardiomiopatía, la reestenosis vascular, entre otras.<sup>78</sup>

La dislipidemia es un factor importante que contribuye al padecimiento de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica. La hipercolesterolemia ocasionada por la deficiencia del receptor de las lipoproteínas de baja densidad (LDLR), es un ejemplo de alteraciones genéticas que producen aterosclerosis prematura y cardiopatía isquémica. Las mutaciones heterocigóticas son comunes en la población general y se estima en 1:500 individuos. Estos individuos tienen mayor riesgo de infarto al miocardio antes de los 60 años. Otros errores congénitos del metabolismo de las lipoproteínas incluyen a la apolipoproteína B, apolipoproteína E (Apo E), apolipoproteína AI, AII, AIV, lipoproteína lipasa, lipasa hepática, lipoproteína A, etc. Muchos genes de las lipoproteínas (en conjunto con factores ambientales) participan en la cardiopatía isquémica.<sup>78</sup>

La apolipoproteína E se sintetiza por el hígado y los macrófagos tisulares. El hígado tiene funciones antiaterogénicas importantes que realizan el catabolismo de las lipoproteínas. La Apo E del hígado facilita la depuración de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de los quilomicrones, para reducir las concentraciones plasmáticas de colesterol.<sup>79</sup>

Tsukamoto y su grupo demostraron la eficacia de la transferencia génica al hígado mediante vectores adenovirales para normalizar las lipoproteínas y la regresión de la aterosclerosis en ratones con deficiencia de apolipoproteína E. Otros estudios probaron que la terapia adenoviral aumentó la expresión de Apo E en ratones con deficiencia de lipoproteínas de muy baja densidad (alimentados con dietas ricas en colesterol), al demostrar la disminución progresiva de la aterosclerosis. Se considera que la apolipoproteína E (la sintetizada por el hígado y la derivada de los macrófagos) tiene potencia antiaterogénica.<sup>79</sup>

Rinaldi et al, informaron efectos satisfactorios en la administración intramuscular de ADN en plásmidos, al disminuir la hipercolesterolemia en ratones con

deficiencia de apolipoproteína E.<sup>80</sup> Enjoji et al, demostraron la efectividad del tratamiento con ribozimas (moléculas pequeñas de ARN) en modelos murinos con deficiencia de apolipoproteína B.<sup>81</sup>

Otros aspectos importantes en el tratamiento de la hiperlipidemia familiar implican la sobreexpresión ectópica de los receptores de lipoproteínas de muy baja densidad como miembros de la familia de receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDLR). La expresión transgénica de los receptores de lipoproteínas de muy baja densidad (en el hígado), corrige la hipercolesterolemia en animales experimentales y sugiere el uso de la terapia génica en varias hiperlipidemias, incluyendo la familiar. Los primeros estudios con adenovirus (mediante la transferencia de genes de lipoproteínas de baja densidad) de humanos a modelos murinos con hiperlipidemia familiar, corrigieron la dislipidemia de forma transitoria; sin embargo, la respuesta inmunitaria humoral y celular producida por los receptores de lipoproteínas de baja densidad, eliminó la expresión transgénica.<sup>82</sup>

Se ha logrado revertir la hipercolesterolemia en ratones con deficiencia de receptores de lipoproteínas de baja densidad por medio de la transferencia de éstos, utilizando adenovirus combinados con anticuerpos anti-CD154 para suprimir la respuesta inmunitaria del vector y los productos extraños del transgen.<sup>83</sup>

La terapia génica demuestra mejores resultados en los problemas isquémicos que en la aterosclerosis, relacionados con las enfermedades cardiovasculares. Los ensayos clínicos recientes muestran que la inyección de ADN desnudo (que codifica para el factor de crecimiento endotelial) induce el desarrollo de los vasos colaterales en pacientes con isquemia cardíaca. Son alentadores los estudios de experimentación en animales para el tratamiento de la estenosis con terapia génica y se espera que el tratamiento en humanos sea útil. El uso de la terapia génica en las diferentes áreas de la cardiología, requiere mayor progreso tecnológico en estudios de genética y biología molecular celular.<sup>84</sup>

Las estrategias satisfactorias en el rescate al miocardio de la terapia génica incluyen: terapias cardioprotectoras (en animales con cardiopatía isquémica), lesiones de perfusión y la transferencia de citocinas proangiogénicas. El trasplante de células progenitoras autólogas surge como opción potencial

para la revascularización y reparación del miocardio infartado e isquémico.<sup>85</sup>

## ÉTICA Y TERAPIA GÉNICA

El uso de la terapia génica se ha enfocado a enfermedades que amenazan la vida, como el cáncer. Los tratamientos convencionales han fallado; sin embargo, las ventajas de esta terapia son de gran esperanza y sobrepasan los posibles riesgos. Existen otras enfermedades crónicas, como la artritis reumatoide que implica mala calidad de vida y con la interrogante del momento en que debe iniciarse la terapia génica en éstas.

## CONCLUSIONES

La mayor parte de las enfermedades genéticas y adquiridas puede tratarse con resultados satisfactorios con la terapia génica. Sin embargo, esta terapéutica ha tenido de grandes dificultades. Diversos vectores virales y no virales se siguen investigando en fase I y II, y existen aún muchos problemas por resolver relacionados con la eficacia, respuesta inmunitaria del huésped y los efectos adversos.

La terapia génica es de gran esperanza para el tratamiento de muchas enfermedades crónicas. Los avances tecnológicos y los nuevos vectores pueden mejorar la eficiencia y seguridad de esta terapia.

## REFERENCIAS

1. Said-Fernández S, Martínez-Rodríguez HG, Salinas Carmona MC, et al. Advances and perspective in molecular medicine. *Gac Med Mex* 2000;136:455-75.
2. Barrera Saldaña HA. Biología molecular y medicina. En: Guizar-Vázquez ed. *Genética clínica. Diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias*. México: El Manual Moderno, 2001:pp:105-16
3. Hwu P, Rosenberg SA. Gene therapy of cancer. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA editors. *Cancer. Principles and practice of oncology*. Philadelphia: Lipincott-Raven, 1997: pp:3005-22.
4. Scholl SM, Michaelis S, McDermott R. Gene therapy applications to cancer. *J Biomed Biotechnol* 2003;3:35-47.
5. Danos O, Mulligan RC. Safe and efficient generation of recombinant retroviruses with amphotropic and ecotropic host ranges. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:6460-4.
6. Miller AD, Miller DG, García JV, Lynch CMI. Use of retroviral vectors for gene transfer and expression. *Methods Enzymol* 1993;217:581-99.



7. Berkner KL. Expression of heterologous sequences in adenoviral vectors. *Curr Top Microbiol Immunol* 1992;158:39-66.
8. Bueler H. Adeno-associated viral vectors for gene transfer and gene therapy. *Biol Chem* 1999;380:613-22.
9. Yang NS, Burkholder J, Roberts B, Martinell B, McCabe D. *In vivo* and *in vitro* gene transfer to mammalian somatic cells by particle bombardment. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:9568-72.
10. Fulton GJ, Davies MG, Koch WJ, Dalen H, et al. Antisense oligonucleotide to proto-oncogen c-myc inhibits the formation of intimal hyperplasia in experimental vein grafts. *J Vas Surg* 1997;25:453-63.
11. Christoffersen RE, Marr JJ. Ribozymes as human therapeutic agents. *J Med Chem* 1995;38:2023-37.
12. Crystal RG. Transfer of genes to human: early lesson and obstacles to success. *Science* 1995;270:404-10.
13. Bodine D, Jameson JL, McKay R. Stem cell and gene transfer in clinical medicine. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DN, Brandwald E, Hauser S, Jameson JL, editors. *Harrison's, Principles of Internal Medicine*, 16<sup>a</sup> ed. New York: Mc Graw Hill, 2005;pp:392-7.
14. Boucher RC. Cystic fibrosis. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DN, Brandwald E, Hauser S, Jameson JL. *Harrison's, Principles of Internal Medicine*, 16<sup>a</sup> ed. New York: Mc Graw Hill, 2005;pp:1543-46.
15. Boucher RC. Status of gene therapy for cystic fibrosis lung disease. *J Clin Invest* 1999;103:441-5.
16. Ennist DL. Gene therapy for lung disease. *Trends Pharmacol Sci* 1999;20:260-6.
17. West J, Rodman D. Gene therapy for pulmonary disease. *Chest* 2001;119:613-7.
18. Barzon L, Boscaro M, Palu G. Endocrine aspects of cancer gene therapy. *Endocr Rev* 2004;25:1-44.
19. McCormick F. Cancer gene therapy: fringe or cutting edge? *Nat Rev Cancer* 2001;1:130-41.
20. Ganalis E, Russell S. Cancer gene therapy clinical trials: lesson for the future. *Br J Cancer* 2001; 85:1010:1432-6.
21. Anderson WF. The best time of the time, worst of times. *Science* 2000;288:627-9.
22. Marshall E. Clinical trials: gene therapy death prompts review of adenovirus vector. *Science* 1999;286:2244-5.
23. Basthaw ML, Wilson JM, Raper S, Yudkoff M, Robinson MB. Recombinant adenovirus gene transfer in adults with partial ornithine transcarbamylase deficiency (OTCD) *Hum Gene Ther* 1999;10:2419-37.
24. Raper SE, Yudkoff M, Chirmule N, Gao GP, et al. A pilot study *in vivo* liver directed gene transfer with an adenovirus vector in subjects with partial ornithine transcarbamylase deficiency. *Hum Gene Ther* 2002;13:163-75.
25. NIH report. Assessment of adenoviral vector safety and toxicity: report of the National Institutes of Health recombinant DNA Advisory Committee. *Hum Gene Ther* 2002;13:3-13.
26. Schnel MA, Zhang Y, Tazelaar J, Gao GP, et al. Activation of innate immunity in non human primates following intraportal administration of adenoviral vectors. *Mol Ther* 2001; 3:708-22.
27. Morral N, O'Neill WK, Rice K, Leland MM, et al. Lethal toxicity, severe endothelial injury, and a threshold effect with doses of an adenoviral vector in baboon. *Hum Gene Ther* 2002;13:143-54.
28. Cazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de saint Basile G, Gross F, et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-XI disease. *Science* 2000;288:269-72.
29. Hacein-Bey-Abina S, Le Deist F, Carlier F, Bouneaud C, et al. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by *ex vivo* therapy. *N Engl J Med* 2002;346: 1185-93.
30. Marshall E. What to do when clear success comes with an unclear risk? *Science* 2002;298:510-11.
31. Hacein-Bey-Abina S, Von kalle C, Schmidt M, Le Deist F, et al. A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 2003;348:255-6.
32. Gansbacher B. Report of a second serious adverse event in a clinical trial of gene therapy for X-linked severe combined immune deficiency (X-SCID). *J Gene Med* 2003;5:261-2.
33. Check E. Second cancer case halts gene therapy trial. *Nature* 2003;421:305.
34. Kohn DB, Sadelain M, Glorioso JC. Occurrence of leukaemia following gene therapy of X-linked SCID. *Nat Rev Cancer* 2003;3:477-88.
35. Kohn DB, Sadelain M, Dunbar C, Bodine D, et al. American Society of Gene Therapy (ASGT) ad hoc subcommittee on retroviral-mediated gene transfer to hematopoietic stem cell. *Mol Ther* 2003;8:180-7.
36. Galanis E, Hersh EM, Stopeck AT, Gonzalez R, et al. Immunotherapy of advanced malignancy by direct gene transfer of interleukin-2 DNA/DMRIE/DOPE lipid complex: phase I/II experience. *J Clin Oncol* 1999;17:3313-23.
37. Beldegrun A, Tso CL, Zisman A, Naitoh J, et al. Interleukin 2 gene therapy for prostate cancer: phase I clinical trial and basic biology. *Hum Gene Ther* 2001;12:883-92.
38. Stopeck AT, Jones A, Hersh EM, Thompson JA, et al. Phase II study of direct intralesional gene transfer of allovectin-7, an HLA-B7/ $\beta$ -microglobulin DNA-liposome complex, in patients with metastasis melanoma. *Clin Cancer Res* 2001;7:2285-91.
39. Yoo GH, Hung MC, Lopez-Berestein G, LaFollete S, et al. Phase I trial of intratumoral liposome E1A gene therapy in patients with recurrent breast and head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:1237-45.
40. Kuball J, Wen SF, Leissner J, Atkins D, et al. Successful adenovirus mediates wild-type p53 gene transfer in patients with bladder cancer by intravesical vector instillation. *J Clin Oncol* 2002;20:957-65.
41. Rochlitz C, Jantschke P, Bongartz G, Dietrich PY, et al. Gene therapy study of cytokine-transfected xenogenic cell (Vero-interleukin-2) with metastatic solid tumor. *Cancer Gene Ther* 1999; 6:271-81.
42. Swisher SG, Roth JA, Nemunaitis J, Lawrence DD, et al. Adenovirus mediated p 53 gene transfer in advanced non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:763-71.
43. Tait DL, Obermiller PS, Redlin-Frazier S, Jensen RA, et al. A phase I trial of retroviral BRCA1sv gene therapy in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 1997;3:1959-68.
44. Molnar-Kimber KL, Sterman DH, Chang M, Kang EH, et al. Impact of preexisting and induced humoral and cellular immune responses in a adenovirus-based gene therapy phase I clinical trial for localized mesothelioma. *Hum Gene Ther* 1998;9:2121-33.
45. Vasey PA, Shulman LN, Campos S, Davis J, et al. Phase I trial of intraperitoneal injection of the D1A-55-kd- gene elated

- adenovirus ONYX-015(dl1520) given of day 1 through 5 every 3 weeks in patients with recurrent/refractory epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:1562-9.
46. Schuler M, Herrmann R, De Greve JL, Stewart AK, et al. Adenovirus-mediated wild-type p53 gene transfer in patients receiving chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer: results of a multicenter phase II study. *J Clin Oncol* 2001;19:1750-8.
  47. Clayman GL, el-Naagar AK, Lippman SM, Henderson YC, et al. Adenovirus mediated p53 transfer in patients with advanced recurrent head and neck squamous carcinoma. *J Clin Oncol* 1998;16:2221-32.
  48. Sweeney P, Pister LL. Ad5CMVp53 gene therapy for locally advanced prostate cancer- where do we stand? *World J Urol* 2000;18:121-4.
  49. Crystal RG, Harvey BG, Wisnivesky JP, O'Donoghue KA, et al. Analysis for risk factors for local delivery of low and intermediate-doses adenovirus gene transfer vectors to individuals with a spectrum of comorbid conditions. *Hum Gene Ther* 2002;13:65-100.
  50. Harvey BG, Maroni J, O'Donoghue KA, Chu KW, et al. Safety of local delivery of low-and intermediate-dose adenovirus gene transfer vectors to individual with a spectrum of morbid condition. *Hum Gene Cancer* 2002;13:15-63.
  51. Klatzman D, Valery CA, Bensimon G, Marro Boyer O, et al. A phase I/II study of herpes simplex virus type-1 thymidine kinase "suicide" gene therapy for recurrent glioblastoma. Study Group of Gene therapy for Glioblastoma. *Hum Gene Ther* 1998;9:2595-2604.
  52. Attur MG, Dave MN, Amin AR. Functional genomic approaches in arthritis. *Am J Pharmacogenomics* 2004;4:29-43.
  53. Balow JE, Boumpas DT, Austin HA. New prospects for treatment of lupus nephritis. *Semin Nephrol* 2000;20:32-39.
  54. Tsokos GC, Gerald TN. Gene therapy in the treatment of autoimmune disease. *J Clin Invest* 2000;106:181-3.
  55. Agarwal RK. Retroviral gene therapy with an immunoglobulin-antigen fusion construct protects from experimental autoimmune uveitis. *J Clin Invest* 2000; 106:245-52.
  56. Lawson BR. Treatment of murine lupus with cDNA encoding INF- $\gamma$ /Fc. *J Clin Invest* 2000;106:207-15.
  57. Hsu HC, Zhang HG, Zhou T, Mountz JD. Management of murine lupus by correction of FAS and Fas ligand induced apoptosis. Therapeutic rationale and strategies. In: *Lupus molecular and cellular pathogenesis*. Kammer GM Toscos GC editors. New Jersey: Human Press, 1999;pp:671-93.
  58. Costa GL. Targeting rare population of murine antigen-specific T lymphocytes by retroviral transduction for potential application in gene therapy for autoimmune disease. *J Immunol* 2000;164:3581-90.
  59. Croxford JL. Gene therapy for chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis using cells expressing a novel soluble p75 dimeric TNF receptor. *J Immunol* 2000;164:2778-81.
  60. Chen LZ. Gene therapy in allergic encephalomyelitis using myelin basic protein-specific T cell engineered to express latent transforming growth factor-beta1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:12516-21.
  61. Mathisen PM, Yu M, Johnson JM, Drazba JA, Tuohy VK. Treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis with genetically modified memory T cells. *J Exp Med* 1997;186:159-64.
  62. Moritani M. Prevention of adoptively transferred diabetes in nonobese diabetic mice with IL-10 transduced islet specific Th1 lymphocytes. A gene therapy model for autoimmune diabetes. *J Clin Invest* 1996; 98:1851-9.
  63. Evans CH, Rediske JJ, Abramson SB, Robbins PD. Joint efforts: tackling arthritis using gene therapy. First International Meeting of the Gene therapy of arthritis and related disorders. *Mol Med Today* 1999;5:148-51.
  64. Boyle DL. Intra-articular IL-4 gene therapy in arthritis: anti-inflammatory effect and enhanced Th2 activity. *Gene Ther* 1999;6:1911-8.
  65. Bessis N. Attenuation of collagen-induced arthritis in mice by treatment with vector cells engineered to secrete interleukin-13. *Eur J Immunol* 1996;26:2399-404.
  66. Toscos GC, Nepom GT. Gene therapy in the treatment of autoimmune disease. *J Clin Invest* 2000;106:181-3.
  67. Moreland LW. Potential biologic agents for treating rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2001;27:445-91.
  68. Maini RN, Elliot M, Brennan FM, Williams RO, Feldman M. TNF blockade in rheumatoid arthritis: implications for therapy and pathogenesis. *APMIS* 1997;105:257-63.
  69. Moreland LW, Baumgartner SW, Schiff MH. Treatment of rheumatoid arthritis with recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. *N Engl J Med* 1997;337:141-7.
  70. Keystone EC. Tumor necrosis factor- $\alpha$  blockade in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2001;27:427-44.
  71. Müller-Ladner U, Pap T, Gay RE, Gay S. Gene transfer as a future therapy for rheumatoid arthritis. *Expert Opin Biol Ther* 2003;3:587-98.
  72. Wooley Ph. Immunotherapy in collagen-induced arthritis: past, present and future. *Am J Med Sci* 2004; 327:217-26.
  73. Müller-Ladner U, Gay R, Gay S. Gene therapy in rheumatoid arthritis: how to target joint destruction? *Arthritis Res* 1999;1:5-9.
  74. Vann de Loo FAJ, Van der Berg WB. Gene therapy for rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2002;28:127-49.
  75. Wolkowicz R, Nolan GP. Gene therapy progress and prospects: novel gene therapy approaches for AIDS. *Gene Ther* 2005;12:467-76.
  76. Barlett JA. Antiretroviral treatment. In: Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR. *Infectious disease*. 2<sup>nd</sup> ed. Pennsylvania: Saunders, 1998;pp:1154-68.
  77. Morris KV, Grahm RA, Looney DJ, Pedersen NC. Characterization of a mobilization-competent simian immunodeficiency virus (SIV) vector containing a ribozyme against SIV polymerase. *J Gen Virol* 2004;85:1489-96.
  78. Lewis MES. Gene expression and therapy in lipoprotein disease models: getting to the heart of the matter. *Clin Genet* 2001;59:387-92.
  79. Tsukamoto K, Tangirala RK, Chun S, Pure E, Rader DJ. Hepatic expression of apolipoprotein E inhibits progression of atherosclerosis without reducing cholesterol levels in LDL receptor-deficient mice. *Mol Ther* 2000;1:189-94.
  80. Rinaldi M, Catapano AL, Parrella P, Ciafre SA, et al. Treatment of severe hypercholesterolemia in apolipoprotein E-deficient mice by intramuscular injection of plasmid DNA. *Gene Ther* 2000;21:1795-1801.
  81. Enjoji M, Wang F, Nakamuta M, Chan L, Teng BB. Hammerhead ribozyme as a therapeutic agent for hyperlipidemia: production of truncated apolipoprotein B and hypolipidemic

- effects in a dyslipidemia murine model. *Hum Gene Ther* 2000;11:2415-30.
82. Chen SJ, Rader DJ, Tazelaar J, Kawashiri M, et al. Prolonged correction of hyperlipidemia in mice with familial hypercholesterolemia using an adeno-associated viral vector expressing very-low-density lipoprotein receptor. *Mol Ther* 2000;2:256-61.
  83. Stein CS, Martins I, Davidson BL. Long-term reversal of hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor (LDLR)-deficient mice by adenovirus-mediated LDLR gene transfer combined with CD154 blockade. *J Gene Med* 2000;2:41-51.
  84. Teiger E, Deprez I, Fatacciolo V, Champagne S, et al. Gene therapy in heart disease. *Biomed Pharmacother* 2001;55:148-54.
  85. Melo LG, Pachori AS, Kong D, Gneccchi M, et al. Molecular and cell-based therapies for protection, rescue, and repair of ischemic myocardium. *Circulation* 2004;109:2386-93.

**Referencia de bolsillo para médicos 10ª ed.**

**696 pág. 13.75 x 21 cm. Pasta suave. © McGraw Hill, 2006**

**ISBN 970-10-5642-6**

**AUTOR: GOMELLA, L. The Bernard W. Godwin, Jr., Professor and Chairman, Department of Urology, Jefferson Medical College, Thomas Jefferson University, Philadelphia, Pennsylvania.**

Referencia de bolsillo para médicos parte de un programa de 1978 de la Universidad de Kentucky desarrollado por los mismos estudiantes para ayudar a sus compañeros y a las generaciones futuras a la transición de los años preclínicos a los clínicos. Este programa denominado "Scut Monkey", ha desarrollado una vía de comunicación estudiante-estudiante al paso de los años, con información esencial de "cómo sobrevivir en internado", con énfasis en la información esencial para el tratamiento diario efectivo del paciente e información paso a paso sobre el interrogatorio y la exploración física; el diagnóstico diferencial; pruebas clave de laboratorio y gabinete y procedimientos en la cama del paciente.

También respuestas obligadas sobre técnicas de sutura, nutrición parenteral total, atención respiratoria, ECG, cuidados intensivos y emergencias. Incluye un capítulo de "medicamentos" con más 1,000 fármacos de uso frecuente con dosis pediátricas y para adultos, así como datos clave para la prescripción.

Asimismo, incluye una cobertura actualizada de los protocolos terapéuticos vigentes, abriendo así la posibilidad de que los residentes y especialistas obtengan información esencial rápidamente en el momento preciso, uniéndose a este esfuerzo de un grupo de estudiantes que desde hace más de 20 años han logrado mantenerse a la altura de las grandes obras de la medicina moderna.