

Terapia génica en reumatología

Roberto González-Amaro

Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, S.L.P., México.

La finalidad primaria de la terapia génica es la de curar enfermedades mediante la transferencia de material genético. En un primer momento, este tipo de terapia fue diseñada para el tratamiento de enfermedades en las que la presencia de un gen defectuoso condiciona una disminución o ausencia de la proteína correspondiente, anomalía que, a su vez, constituye la causa de un cuadro clínico. De esta forma, los errores congénitos del metabolismo fueron considerados inicialmente como la condición apropiada para este tipo de terapia. Los primeros ensayos de terapia génica se remontan a mediados de la década de los setenta, en las que se intentó corregir la deficiencia congénita de arginasa mediante la administración de un papilomavirus de conejo. Estos intentos poco fundamentados no tuvieron éxito y no fue sino a principios de los años noventa cuando se iniciaron los estudios formales de terapia génica. Este nuevo inicio fue muy prometedor y en el año 1992 se informó de que, mediante terapia génica *ex vivo*, se había logrado la corrección parcial de la deficiencia de adenosina desaminasa (ADA) en una paciente con inmunodeficiencia combinada grave¹. En la actualidad, esta paciente tiene 14 años y ha experimentado un desarrollo adecuado, hecho que puede considerarse como un éxito de la terapia génica. Lo anterior, junto con un mejor conocimiento de la patogenia de diferentes enfermedades de los errores congénitos del metabolismo, motivó que se diseñaran modalidades de terapia génica específicas para neoplasias malignas, así como para enfermedades degenerativas y autoinmunes. Desde entonces, el avance en este campo ha sido más bien lento y no exento de contratiempos, sobre todo en fechas recientes. De este modo, en el año 1999 se informó de la muerte de 7 pacientes que recibían desde hacía 18 meses terapia génica en tres centros diferentes. Lo más alarmante de esta situación lo constituyó el caso de un paciente de 18 años con una deficiencia congénita de *ornitina transcarbamila* (una enzima implicada en el ciclo de la urea) que murió aparentemente por un fenómeno inflamatorio generalizado inducido por el vector empleado en la terapia génica, un adenovirus². Este caso, y la falta de transparencia en su tratamiento, llevaron a

la Food and Drugs Administration (FDA) de los EE.UU. a suspender todos los protocolos de terapia génica que se estaban llevando a cabo en el prestigioso Pennsylvania Institute for Human Gene Therapy. Este panorama poco alentador se vio contrarrestado de forma efectiva por el trabajo publicado en el año 2000 por Cavazzana-Calvo et al³, donde se informa del tratamiento exitoso de 2 casos de inmunodeficiencia combinada grave mediante la transferencia *ex vivo* del gen que codifica para la subunidad gamma de receptores de citocinas (o molécula CD132) con un vector retroviral. En la actualidad, la investigación en terapia génica es intensa y en el área de la reumatología las perspectivas parecen ser particularmente buenas.

En el caso de las enfermedades inflamatorias/autoinmunes, la terapia génica ha llevado al conocimiento de los siguientes elementos: *a)* comprensión adecuada de la fisiopatogenia de la enfermedad; *b)* identificar y *clonar* el material genético apropiado para el tratamiento de la enfermedad, y *c)* contar con un vehículo adecuado (vector) para realizar la transferencia del material genético. En relación con el primer punto, una gran cantidad de información indica que las citocinas proinflamatorias y las antiinflamatorias desempeñan un papel clave tanto en la génesis de la enfermedad autoinmune como en la lesión a los tejidos que las caracteriza. El factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y la interleucina 1 (IL-1) están claramente implicados en la patogenia del fenómeno inflamatorio, tanto por su efecto sobre los leucocitos como sobre el endotelio. En la artritis reumatoide en particular, estas citocinas también desempeñan un papel importante en el deterioro del cartílago articular y del hueso subcondral. Asimismo, el TNF- α y la IL-1, al igual que sus correspondientes receptores celulares, representan un objetivo adecuado para la terapia génica. En estos casos, el propósito de la terapia génica es impedir la acción de estas citocinas y esto se consigue transfiriendo el material genético que codifica para sus antagonistas naturales, por ejemplo, el antagonista del receptor de la IL-1 o IL-1 RA o el receptor soluble del TNF- α (sTNFRI)^{4,5}. Otro abordaje lo constituye la transferencia de genes que codifican para citocinas que poseen una

fuerte actividad antiinflamatoria, como IL-4, IL-13 o IL-10^{6,7}. En el último caso, es importante mencionar que el virus de Epstein-Barr posee un gen que codifica para una proteína homóloga de la IL-10 (IL-10 viral o vIL-10), la cual tiene una actividad antiinflamatoria similar a la de la citocina humana, pero sin su efecto inmunoestimulador⁸. Un abordaje similar es la transferencia de genes que, como el que codifica para la proteína *csk*, regula negativamente las señales intracelulares de activación generadas a través de receptores de citocinas proinflamatorias⁹. La terapia con genes implicados en la inducción de muerte celular programada o apoptosis constituye una posibilidad totalmente diferente pero de igual interés. En el caso de la artritis reumatoide, la proliferación celular en la membrana sinovial, con invasión del cartílago articular, es una condición que requiere ser inhibida para salvaguardar la función articular. Por otra parte, existen evidencias por las que en el lupus eritematoso generalizado, la pérdida de tolerancia inmunológica a los antígenos propios está relacionada con defectos en la apoptosis de células autorreactivas. Por esta razón, la transferencia de los genes *fas* (CD95) o de su ligando (Fas-L) es otro abordaje interesante¹⁰. Una opción relacionada con la anterior es la transferencia de genes inductores de envejecimiento celular que inhiben la proliferación de fibroblastos y sinoviocitos¹¹. Por último, también se ha explorado la posibilidad de transferir genes que codifican para proteínas que regulan negativamente la activación de linfocitos T, como CTLA-4 o CD152¹². Lo dicho anteriormente, es sólo un listado parcial de las diferentes modalidades de terapia génica experimental en enfermedades autoinmunes¹³.

La terapia génica se puede realizar *ex vivo* e *in vivo*. En el primer caso se extraen células del paciente, se les transfiere el material genético en el tubo de ensayo y, posteriormente, estas células transducidas son introducidas de nuevo en el paciente. La otra posibilidad consiste en administrar el vector que contiene el material genético en forma local o sistémica y esperar a que el proceso de transferencia se lleve a cabo *in vivo*. En cualquiera de los 2 casos se requiere que el vector no sea tóxico, que sea poco inmunogénico y que sea eficiente, es decir, que dé lugar a una síntesis adecuada de la proteína terapéutica correspondiente. Por el momento, los principales vectores corresponden a virus, principalmente adenovirus, herpesvirus, retrovirus y partículas asociadas a los adenovirus. En todos los casos, se trata de cepas de virus con baja o nula patogenicidad y sin la capacidad de replicarse en humanos, pero hay que tener en cuenta que existe la posibilidad de que estos virus revertan al estado original y que además puedan actuar como agentes mutagénicos/oncogénicos. Éste es un campo en el que aún queda mucho por avanzar, incluyendo el diseño de vectores no virales ta-

les como los liposomas acoplados a proteínas. El problema de dirigir el material genético en forma selectiva a las células de interés –los sinoviocitos en el caso de la artritis reumatoide– continúa siendo uno de los desafíos más importantes en la terapia génica. Asimismo, la inmunogenicidad de los vectores y la expresión transitoria del material genético transferido son otros obstáculos que no han sido resueltos por completo.

En fechas recientes se concluyeron los dos estudios pioneros de terapia génica en reumatología. Con diseños casi idénticos, se realizó la transferencia *ex vivo* del gen del IL-1RA a sinoviocitos, los cuales fueron inyectados en una articulación que ya estaba programada para ser reemplazada quirúrgicamente. Obviamente, se trató de estudios fase I en los que no se evaluó la eficacia del procedimiento, sino sólo su factibilidad y seguridad. No se encontraron efectos colaterales de importancia y quedan por conocerse con detalle los resultados del análisis de los especímenes quirúrgicos obtenidos. En breve se iniciarán otros dos estudios fase I en los que se administrará ganciclovir en articulaciones en las que se haya transferido previamente el gen de la timidincinasa; se sabe que dicho proceso resulta en la generación de un producto tóxico que elimina las células transducidas. En modelos experimentales, existen evidencias de que este tipo de terapia induce la muerte de las células en proliferación de la membrana sinovial, sin afección importante de condrocitos o células de hueso subcondral¹⁴.

En resumen, se podría concluir que aunque la terapia génica en reumatología está aún en sus inicios, en la actualidad está respaldada por un conocimiento sólido sobre el material genético a emplear, los procedimientos de transferencia de ese material y los vectores de expresión. Este campo es un ejemplo más de la importancia del trabajo conjunto entre las ciencias básicas y la investigación clínica, algo que ya hizo evidente en la terapia con bloqueadores del TNF-α en la artritis reumatoide. Por otra razón, es muy importante que el reumatólogo clínico se mantenga al corriente de este interesante tema.

Bibliografía

1. Blaese RM, Culver KW, Miller AD, Carter CS, Fleisher T, Clerici M et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. *Science* 1995; 270: 475-80.
2. Marshal E. FDA halts all gene therapy trials at Penn. *Science* 1999; 287: 565b.
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: 669-72.
4. Oligino T, Ghivizzani S, Wolfe D, Lechman E, Krisky D, Mi

- Z et al. Intraarticular delivery of a herpes simplex virus IL-1RA gene vector reduces inflammation in a rabbit model of arthritis. *Gene Ther* 1999; 6: 1713-20.
5. Zhang HG, Xie J, Yang P, Wang Y, Xu L, Liu D et al. Adeno-associated virus production of soluble tumor necrosis factor receptor neutralizes tumor necrosis factor alpha and reduces arthritis. *Hum Gene Ther* 1999; 11: 2431-42.
 6. Woods JM, Katschke KJ Jr, Volin MV, Ruth JH, Woodruff DC, Campbell PC et al. IL-4 adenoviral gene therapy reduces inflammation, proinflammatory cytokines, vascularization and bony destruction in rat adjuvant-induced arthritis. *J Immunol* 2001; 166: 1214-22.
 7. Woods JM, Kastchke KJ Jr, Tokuhira M, Kurata H, Arai KI, Amin MA et al. Reduction of inflammatory cytokines and prostaglandin E2 by IL-13 gene therapy in rheumatoid arthritis synovium. *J Immunol* 2000; 165: 2755-63.
 8. Kim KN, Watanabe S, Ma Y, Thornton S, Giannini EH, Hirsch R. Viral IL-10 and soluble TNF receptor act synergistically to inhibit collagen-induced arthritis following adenovirus-mediated gene transfer. *J. Immunol* 2000; 164: 1576-81.
 9. Takayanagi H, Juji T, Miyazaki T, Iizuka H, Takahashi T, Isshiki M et al. Suppression of arthritic bone destruction by adenovirus-mediated csk gene transfer to synoviocytes and osteoclasts. *J Clin Invest* 1999; 104: 137-46.
 10. Okamoto K, Asahara H, Kobayashi T, Matsuno H, Kobata T, Suhida T et al. Induction of apoptosis in the rheumatoid synovium by Fas ligand gene transfer. *Gene Ther* 1998; 5: 331-8.
 11. Taniguchi K, Kohsaka H, Inoue N, Terada Y, Ito H, Hirokawa K et al. Induction of the p16INK4a senescence gene as a new therapeutic strategy for the treatment of rheumatoid arthritis. *Nat Med* 1999; 5: 760-7.
 12. Quattrocchi E, Dallman MJ, Feldmann M. Adenovirus-mediated gene transfer of CTLA-4Ig fusion protein in the suppression of experimental autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1688-97.
 13. Seroogy CM, Fathman CG. The application of gene therapy in autoimmune diseases. *Gene Ther* 2000; 7: 9-13.
 14. Yao Q, Glorioso JC, Evans CH, Robbins PD, Kovacs I, Oliniano TJ et al. Adenoviral mediated delivery of Fas ligand to arthritic joints causes extensive apoptosis in the synovial lining. *J Gene Med* 2000; 2: 210-9.