



EL PAPEL DEL TRATAMIENTO CON VECTORES VÍRICOS EN ENFERMEDADES CARDÍACAS

Gabriel Cruz Díaz¹, Diana Citlali García Plata¹

¹Escuela de Medicina del Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Guadalajara, Jalisco, México.

Correspondencia a: Diana Citlali García Plata. Correo: dianadita_1223@hotmail.com

Recibido: 12 de mayo de 2015

Aceptado: 5 de septiembre de 2015

RESUMEN

El tratamiento génico con vectores virales ha cobrado gran relevancia en los últimos años. Este método se ha usado en distintas patologías, desde enfermedades del sistema nervioso central hasta congénitas. Por otro lado, las patologías cardíacas han sido históricamente enfermedades crónicas pues los pacientes nunca pierden el riesgo de sufrir alguna complicación después de haber presentado alguna afectación en dicho órgano. En esta investigación se describió la utilidad de los vectores virales en el tratamiento de las enfermedades cardíacas a partir de 17 fuentes bibliográficas. Algunos de los vectores que se utilizan hoy en día son: el Adenovirus serotipo 9 (AAV9), serotipo 2 (AAV2), serotipo 2/5 (AAV2/5), serotipo 2.6 (AAV2.6), serotipo 2.9 (AAV2.9), entre otros pues han demostrado buena penetración en los cardiomiocitos. Aunque útil, aún queda mucho campo abierto a las mejoras y a la implementación de nuevo conocimiento para que este método sea aprovechado en su totalidad.

Palabras clave: cardiopatías, virus, terapéutica

ABSTRACT

The gene therapy with viral vectors has gained great importance in recent years. This method has been used in various pathologies, from central nervous system diseases, to congenital diseases. On the other hand, heart diseases have been historically chronic diseases, because patients never lose the risk of complications after having any pathology involving this organ. This article will describe the development of new strategies for the use of viral vectors in heart diseases from 15 literature sources. Some of the vectors that are used today are the Adenovirus serotype 9 (AAV9), serotype 2 (AAV2), serotype 2/5 (AAV2 / 5), serotype 2.6 (AAV2.6), serotype 2.9 (AAV2.9), among others that have already shown good penetration in cardiomyocytes. Although useful, the field remains open to improvement and implementation of new knowledge for this method to be fully exploited.

Key words: heart diseases, viruses, therapeutics

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares ocupan uno de los lugares más altos en causas de morbilidad en todo el mundo. Según un estudio realizado por el

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en México la primera causa de muerte en el 2012 fueron las enfermedades relacionadas con el corazón, representando el 16.9% en hombres y el 19.8% en mujeres con respecto a la totalidad de fallecimientos. Por otro lado, un estudio realizado por el Consejo Nacional para la Prevención Contra Accidentes (CONAPRA) reveló que en el 2013 las enfermedades relacionadas con el corazón ocuparon el segundo lugar de mortalidad nacional, constituyendo el 21.73% de la totalidad de muertes, siendo superada sólo por las complicaciones de Diabetes Mellitus.^{1,2}

Numerosos autores plantean que estas afecciones tienen una base ambiental muy fuerte; sin embargo, las nuevas tendencias en la medicina establecen sus bases en la explicación multifactorial de las enfermedades, dentro de las cuales no se puede ignorar el papel tan fuerte que tiene la genética.

Una de las formas que recientemente han cobrado mayor relevancia como terapia génica es la inducción de carga genética mediante vectores virales, cuyo uso constituye una forma de aprovechar el complejo mecanismo vírico a favor de la salud. Ante la alta incidencia y prevalencia de las enfermedades cardíacas hoy en día se plantea la siguiente interrogante: ¿Es la terapia génica mediante vectores víricos una nueva alternativa para combatir las enfermedades cardíacas? Recientemente esta terapia se ha usado en el tratamiento de muchas enfermedades, principalmente las relacionadas con problemas génicos; sin embargo, su empleo se ha expandido a sectores donde la genética sólo es parte de la fisiopatología de la enfermedad, por lo cual, entre más se comprenden las funciones de los virus y de la genética, más importancia cobrará³.

Entre las enfermedades en las que se están desarrollando tratamientos con vectores víricos podemos encontrar: la cardiomiopatía secundaria a Diabetes Mellitus tipo 1, miocarditis viral, isquemia, cardiomiopatía por coxsackievirus B3, entre otras⁴⁻⁸.

Se ha demostrado, de igual forma, que esta terapia puede ser usada *in útero* sin alterar gravemente la respuesta futura del receptor hacia la infección del virus competente, lo cual mostró un gran avance en cuanto las posibles estrategias para tratar trastornos cardíacos congénitos de manera exitosa. Otro estudio evidenció que el uso de la terapia vírica en los problemas cardíacos mostraba

una especificidad significativa hacia el órgano blanco, detectando sólo minúsculos niveles de genoma del vector en pulmón e hígado^{9, 10}.

Por tales motivos, se espera que al utilizar vectores virales para tratar enfermedades cardíacas se pueda extender la esperanza de vida de los pacientes, o incluso se pueda dar tratamiento definitivo a algunas afecciones.

OBJETIVO

Describir la utilidad de los vectores víricos como tratamiento de las enfermedades cardíacas.

DESARROLLO

Métodos de administración del vector viral

1- Inyección anterógrada en las coronarias

En este método se aprovecha la función fisiológica del flujo coronario para la administración del vector. La ventaja más importante es la posibilidad de realizar el procedimiento de manera simple y percutánea mediante un sistema de catéter, lo cual se puede realizar en un laboratorio de cateterismo. En caso de que existiera un daño severo al corazón o algún problema delicado, este método ofrece una mínima invasión en comparación con la inyección directa al miocardio, que se hace mediante un procedimiento quirúrgico invasivo. En comparación con otros métodos se logra, de esta forma, una distribución homogénea del vector con la misma calidad¹¹.

Uno de los obstáculos de este procedimiento es que el vector debe atravesar la capa endotelial del vaso, por lo cual se administran distintos agentes que incrementan la permeabilidad; por ejemplo: el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), histamina y nitroglicerina, los cuales han demostrado una elevada eficacia. Recientemente, la nitroglicerina ha demostrado gran utilidad cuando se administra mediante una infusión intravenosa sistémica al momento de realizar la transmisión del vector. Otro avance en este campo es el uso de microburbujas con métodos de contraste a las cuales se les carga el vector viral. Este proceder en combinación con un ultrasonido muestra gran ventaja pues, además de monitorear el avance de la sustancia, el ultrasonido puede ser utilizado para romper las burbujas y liberar su contenido en el lugar deseado¹¹.

Se puede lograr la entrega del vector de manera específica a ciertos vasos coronarios o ramas de los mismos mediante la colocación óptima del catéter. Sin embargo, en presencia de oclusión la administración directa específica a esa zona puede resultar imposible¹¹.

Un método para aumentar y controlar la distribución consiste en ocluir selectivamente tanto las arterias como las venas cardíacas. Entre los objetivos que persigue esta maniobra se encuentran: obtener la mejor penetración del vector así como la distribución deseada a la vez que se limita la migración del mismo a otros órganos, siendo esta última la causa del flujo de las venas de Thebesian, las cuales corresponden a menos del 10% del flujo de la mayoría de los pacientes¹¹.

2-Inyección retrógrada en la coronaria:

Este método es parecido al de la inyección anterógrada pero ofrece la ventaja de usar las venas coronarias, las cuales, a diferencia de las arterias, están sin afectación en la mayoría de los pacientes. En combinación con distintos dispositivos especializados de regulación de la presión, se ha demostrado un incremento en la eficacia de la transmisión del vector¹¹.

No obstante, la distribución está limitada y tiene un patrón más disperso, mostrándose más uniforme sólo en caso de oclusión arterial. Esto último hace que este método sea menos útil y más invasivo de cierta forma, por lo cual su uso no es tan recomendado¹¹.

3-Inyección directa intramiocárdica:

Esta maniobra tiene como ventaja el sobrepasar las barreras y las limitaciones que existen en la inyección intravenosa, entre las que podemos citar: el metabolismo (efecto) de primer paso, la neutralización por anticuerpos y la respuesta de linfocitos T. La ventaja más importante de este método es la posibilidad de inyectar directamente la zona deseada. Existen dos formas de realizar la introducción del vector: una desde el exterior, la cual requiere un catéter usando un método quirúrgico; la segunda, desde el interior, que requiere una toracotomía y es el método más invasivo y mayormente asociado a riesgos y morbilidad, lo que determina que este proceder tenga desventajas notables con respecto a la transferencia génica intravascular. La inyección intramiocárdica se realiza con mayor frecuencia en pacientes donde la toracotomía es un

procedimiento que necesariamente se implementará, como lo es en situaciones donde se necesita revascularización. El patrón de expresión del vector es parcheado y tanto el volumen como las cargas que se pueden realizar con seguridad son limitadas¹¹.

Otro de los problemas con el método interior es la retención del vector, pues se ha encontrado que no hay una ventaja notable en la retención que se obtiene con un catéter periférico. Ello se debe a que el vector puede escapar de distintas maneras, iniciando con la misma herida realizada por la aguja al penetrar el músculo. Se ha intentado desarrollar soluciones que ayuden a la permanencia del vector en el lugar deseado, por ejemplo: Matrigel, el cual redujo el escape en un período corto pero falló en contener al vector a largo plazo¹¹.

Por otro lado, el método exterior con catéter es parecido a la inyección anterógrada o retrógrada, solo que emplea estudios de imagen en tiempo real para poder ser más específico en el lugar de inserción. Tiene los mismos problemas, aunque es más riesgoso e invasivo¹¹.

Terapia con vectores virales en cardiomiopatía secundaria a Diabetes Mellitus tipo 1:

La diabetes está asociada con ciertas alteraciones específicas en la función del corazón. En un estudio realizado en la Universidad de Bristol, se evaluó la utilidad de inducir el gen *NGF*, que transcribe el factor de crecimiento nervioso (NGF), mediante vectores virales en corazones de ratones a los que se les indujo Diabetes Mellitus tipo 1. El empleo de NGF está correlacionado con efectos cardioprotectores debido a que se une con el receptor de tropomiosina relacionada a cinasa-A (TrkA), el cual está expresado en la membrana plasmática de células nerviosas y no nerviosas, incluyendo cardiomiocitos y células endoteliales. Uno de sus principales efectos es el antiapoptótico en los cardiomiocitos, a la vez que promueve la angiogénesis⁴.

Se usaron dos tipos de vectores virales para inducir el gen *NGF*: el vector viral asociado a adenovirus serotipo 2 (AAV2) y el serotipo 9 (AAV9). El AAV2 muestra menor eficacia de transducción después de una inyección sistémica en comparación con el AAV9. Por tal motivo, se realizaron dos procedimientos: una inyección intramiocárdica con AAV2 y una sistémica con AAV9. Se encontró que cualquiera de las dos vías de inducción del gen NGF resultó protectora en el

corazón diabético, pues previene la disfunción del ventrículo izquierdo, preserva la microvasculatura, mejora la perfusión, promueve la activación de la vía Akt/Foxo3a y reduce la fibrosis en el corazón de ratones diabéticos.^{4,11-13}

Terapia con vectores virales en miocarditis vírica:

La cardiomiopatía dilatada (DCM) subsecuente a la miocarditis es la causa principal de muerte súbita en jóvenes y usualmente requiere trasplante en las fases finales de la enfermedad. En una investigación se realizó la transferencia de adenovirus que contenían el receptor A para IL-17 (Ad-IL17R:Fc) en ratones con miocarditis por coxsackievirus B3 (CVB3). El uso del Ad-IL17R:Fc inhibió la IL-17A, redujo el número de células TH17 y disminuyó al factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) así como a la IL-6 a los tres meses después del establecimiento de miocarditis por CVB3 crónica, lo cual disminuyó la mortalidad en miocarditis viral debido a DCM. Otro hecho que es válido mencionar fue la prevención del remodelamiento en la miocarditis mediante el uso de Ad-IL17AR:Fc, al reducir el nivel de depósitos de colágeno de tipo I y III, disminuir el número de fibroblastos y reducir el nivel de ADAMTS-1 y MMPs/TIMPs⁵.

Otro estudio se centró en la inducción de RNA de interferencia (RNAi) mediante un AAV9. El uso de RNAi tradicional es limitado debido a su inestabilidad en el plasma y su baja transferencia a células, por lo cual se utilizó RNA de horquilla pequeña (shRdRP) contra la polimerasa de RNA (RdRP) del CVB3. Se realizaron investigaciones tanto en células HeLa como en cardiomiocitos primarios de rata (PNCM), y en ratones de manera *in vivo*. El uso de AAV2 resultó inútil debido a su inhabilidad para transferir a PNCMs. En contraste, el empleo de un análogo pseudotipado AAV2.6 resultó útil al reducir la replicación del virus en PNCM. Finalmente, se utilizó el AAV9-shRdRP debido a que tiene la cápside más cardiotrópica; el resultado fue una disminución en la replicación del virus, siendo más efectiva en los cardiomiocitos^{7,12,14,15}.

Por otro lado, se investigó la utilidad de utilizar al mismo CVB3 como vector, pues su capacidad de infección rebasa por mucho la de los AAV existentes toda vez que puede penetrar en los cardiomiocitos que no están en división. Los resultados son alentadores, la virulencia se redujo tanto en los experimentos *in vitro* como *in vivo*; no obstante, es necesario realizar más estudios para

comprobar su seguridad. Esta puede ser una promesa de terapia futura muy fuerte^{16, 17}.

Terapia con vectores virales en isquemia miocárdica:

En un estudio realizado por la Universidad de Ciencia y Tecnología de Huazhong y el Colegio Médico de Tongji, se evaluó la efectividad de la inducción del gen proangiogénico CD151 en corazones isquémicos de ratas mediante AAVs. Se manipuló el CD151 para que respondiera de manera controlada al elemento de respuesta de hipoxia (HRE) del gen de la enolasa humana. Se utilizaron la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en tiempo real y *Western blot* para confirmar la presencia del mRNA del CD151 en los corazones isquémicos; además, se empleó inmunohistoquímica para detectar el nivel de CD151 en la microvasculatura de las áreas isquémicas del miocardio. Los resultados fueron favorables pues la expresión de CD151 cumplió con su función y promovió el incremento de microvascularidad en el miocardio isquémico⁶.

CONCLUSIONES

El uso de la terapia vírica ha mostrado utilidad en el tratamiento de las enfermedades cardíacas, por lo que se espera que este campo se siga investigando en aras de obtener mejores resultados. Con la utilización de virus distintos a los AAV se demuestra que hay una oportunidad de mejorar, pues existen órganos como el corazón donde los AAV no siempre son los que mejor penetran a las células. Si la evolución de la técnica va por el sendero correcto, se podría esperar la utilización de un mayor número de virus con mejor penetración al órgano específico a tratar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INEGI. Defunciones registradas por principales causas de mortalidad según sexo. Mujeres y hombres en México 2013. Available from: <http://www.inegi.org.mx/>
2. CONAPRA. 10 causas de muerte en México. Causas de defunción en México. Available from: <http://conapra.salud.gob.mx>
3. Cruz G, García D. Papel de los virus en las enfermedades neurodegenerativas: uso beneficioso de vectores virales como terapia e infecciones virales que podrían desencadenar en estas enfermedades. 16 de Abril. 2014;53(256):70-78. Available from: http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?id_revista=360&id_ejemplar=10152
4. Meloni M, Descamps B, Caporali A, Zentilin L, Floris I, Giacca M, et al. Nerve Growth Factor Gene Therapy Using Adeno-Associated Viral Vectors Prevents Cardiomyopathy in Type 1 Diabetic Mice. *Diabetes*. 2012; 61(1):229-40.

5. Xie Y, Li M, Wang X, Zhang X, Peng T, Yang Y, *et al.* In Vivo Delivery of Adenoviral Vector Containing Interleukin-17 Receptor A Reduces Cardiac Remodeling and Improves Myocardial Function in Viral Myocarditis Leading to Dilated Cardiomyopathy. *PLoS One*. 2013; 8(8).
6. Wei Q, Huang X, Lin J, Fei Y, Liu Z, Zhang XA. Adeno-associated viral vector-delivered and hypoxia response element-regulated CD151 expression in ischemic rat heart. *Acta Pharmacol Sin*. 2011;32(2):201-8.
7. Fechner H, Sipo I, Westermann D, Pinkert S, Wang X, Suckau L, *et al.* Cardiac-targeted RNA interference mediated by an AAV9 vector improves cardiac function in coxsackievirus B3 cardiomyopathy. *Journal of Molecular Medicine*. 2008;86(9):987-97.
8. Williams ML, Koch WJ. Viral based myocardial gene therapy approaches to alter cardiac function. *Annu Rev Physiol*. 2004;66:49-75.
9. Bouchard S, MacKenzie TC, Radu AP, Hayashi S, Peranteau WH, Chirmule N, *et al.* Long-term transgene expression in cardiac and skeletal muscle following fetal administration of adenoviral or adeno-associated viral vectors in mice. *J Gene Med*. 2003;5(11):941-50.
10. Raake PW, Hinkel R, Müller S, Delker S, Kreuzpointner R, Kupatt C, *et al.* Cardio-specific long-term gene expression in a porcine model after selective pressure-regulated retroinfusion of adeno-associated viral (AAV) vectors. *Gene Ther*. 2008;15(1):12-7.
11. Ladage D, Ishikawa K, Tilemann L, Müller-ehmsen J, Kawase Y. Percutaneous methods of vector delivery in preclinical models. *Gene Ther*. 2012;19(6):637-41.
12. Agudelo C, Martínez L. Terapia génica: una opción de tratamiento y una controversia ética. (Spanish). *Salud Uninorte* [serial on the Internet]. (2013, May), [cited September 9, 2015]; 29(2): 341-350.
13. Mena M, Flores L, Armendáriz J. Adeno-associated viral vectors: methods for production and purification for gene therapy applications. *Revista De Investigación Clínica; Órgano del Hospital de Enfermedades de la Nutrición* [serial on the Internet]. (2012, Sep), [cited September 9, 2015];64(5):487-94.
14. Byrne MJ, Power JM, Prevolos A, Mariani JA, Hajjar RJ, Kaye DM. Recirculating cardiac delivery of AAV2/1SERCA2a improves myocardial function in an experimental model of heart failure in large animals. *Gene Ther*. 2008;12(23):1550-7.
15. Yu C, Yuan Z, Cao Z, Wang B, Qiao C, Li J, *et al.* A muscle-targeting peptide displayed on AAV2 improves muscle tropism on systemic delivery. *Gene Ther*. 2009; 16(8):953-62.
16. Zeng J, Chen XX, Dai JP, Zhao XF, Xin G, Su Y, *et al.* An Attenuated Coxsackievirus B3 Vector: A Potential Tool for Viral Tracking Study and Gene Delivery. *PLoS One*. 2013;8(12).
17. Henke A, Jarasch N, Wutzler P. Coxsackievirus B3 vaccines: use as an expression vector for prevention of myocarditis. *Expert Review of Vaccines*. 2008;7(10):1557-67.