

IV. Terapia génica y su aplicación en cáncer de próstata

Hugo A Barrera-Saldaña,* Alfredo A Santillán,* Andrés Hernández-García,* Estuardo Aguilar-Córdoba,**
Augusto Rojas-Martínez*

Resumen

El cáncer de próstata es una de las neoplasias más frecuentes en el hombre. La búsqueda de tratamientos más eficaces y con menor morbilidad y menos mortalidad, justifica iniciar en nuestro país estudios clínicos de terapia génica como alternativa de tratamiento para esta malignidad. La terapia génica busca introducir un gen terapéutico en un tipo celular seleccionado, para reemplazar un gen defectuoso o para crear una propiedad metabólica nueva con un objetivo curativo. Existen diferentes estrategias de terapia génica antitumoral. Entre éstas se encuentran la terapia génica suicida, la inmunoterapia, la reversión fenotípica, la terapia de incremento de la resistencia a antineoplásicos y la terapia génica combinada/potenciadora. Un ejemplo de terapia génica suicida es el sistema HSV-tk/GCV, en el que el gen de la enzima timidin quinasa del virus Herpes simplex I introducido en las células tumorales, genera una enzima "foránea" que convierte a la pro-droga ganciclovir, en un compuesto que es tóxico para las células tumorales. Actualmente, este sistema está siendo investigado para tratar el cáncer de próstata en un protocolo clínico fase I-II en el HU de la UANL en Monterrey.

Palabras clave: *Terapia genica, cáncer de próstata*

Introducción

El cáncer de próstata es una de las neoplasias más frecuentes en el hombre. En México, este tumor tiene una tasa de mortalidad de 72.2/100,000 habitantes en edad post-productiva (>65 años), la cual la ubica como la primera causa de muerte por cáncer y la tercera causa general de muerte en el mismo grupo de edad en nuestro país.¹ El tratamiento estándar del cáncer prostático consiste en

Summary

Prostate cancer is one of the most frequent tumors in men. The search for more efficient treatments with less morbidity and mortality justifies the employment of gene therapy clinical trials in Mexico as an alternative treatment for this disease. The purpose of gene therapy is to introduce a therapeutic gene into a specific cell to substitute for a defective gene or to create a new metabolic property with a curative goal. There are different mechanisms of anti-tumor gene therapy suchs as suicide gene therapy, immunotherapy, phenotypic reversion, antineoplastic drug resistance, and enhanced gene therapy. An example of suicide gene therapy is the HSV-tk/GCV system, in which the Herpes simplex I thymidine kinase gene expressed in tumor cells generates a foreign enzyme that converts the pro-drug ganciclovir into a toxic compound. Currently, this system is under research to treat prostate cancer in a phase I-II clinical trial in the UANL Hospital at Monterrey, Mexico.

Key words: *Gene therapy, prostate, cancer*

cirugía o radioterapia dependiendo del estadio clínico y de la etapa histológica, sin embargo estos tratamientos no han sido capaces de disminuir el impacto de esta enfermedad en nuestra sociedad. La búsqueda de tratamientos alternativos más eficaces y con menor morbilidad y mortalidad en este tipo de pacientes, así como también los avances recientes a nivel mundial de la Terapia Génica, justifican la exploración de la terapia génica en contra de este tipo de cáncer en nuestro país.

* Departamento de Inmunología Facultad de Medicina, y Hospital Universitario José E. González. Universidad Autónoma de Nuevo León. Eduardo Aguirre-Pequeño y Francisco I. Madero # 325 Norte Colonia Mitras, Monterrey, N.L. CP 64460, Monterrey N.L.

** Gene Vector Laboratory. Department of Pediatrics, M.C. 3-2374, 1102 Bates, Suite 1170, Houston Texas, 77030.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Hugo A. Barrera Saldaña. Ave. Fco. Madero y Dr. E. Aguirre Pequeño, Col. Mitras Centro, C.P. 64460, Monterrey N.L., México. Teléfono: (8) 329-41-73 Fax: (8) 333-7747.

Fundamento de la Terapia Génica

En los últimos 25 años se han descubierto los genes responsables de muchas enfermedades y desde hace aproximadamente dos décadas se ha pensado en la posibilidad de tratar algunos desórdenes utilizando genes como agentes terapéuticos. Los protocolos de terapia génica buscan introducir un gen en un tipo celular seleccionado, para compensar la falta o mal funcionamiento de la versión endógena, o para crear una propiedad metabólica nueva con el objeto de curar la enfermedad. Estos genes “foráneos” pueden introducirse a las células o tejidos por medio de un vehículo o vector de terapia génica.

Muchas enfermedades presentan a menudo un componente molecular que podría ser blanco de una estrategia de corrección genética, como las enfermedades mendelianas, trastornos reumatológicos y algunas enfermedades infecciosas como el SIDA. Sin embargo, más de 70% de los ensayos clínicos que se están llevando a cabo actualmente se centran en el tratamiento del cáncer.

Selección del vector y del gen

Existen diferentes “modelos” de vectores de terapia génica, entre los cuales se encuentran los de tipo viral, como los retrovirus, adenovirus y virus adeno-asociados, y los no virales como los liposomas y el DNA “desnudo”. Cada uno de ellos tiene características especiales y ventajas o desventajas particulares (cuadro I). Por esta razón, se debe elegir el vehículo más adecuado para introducir el gen terapéutico según la enfermedad a tratar y el sistema a utilizar. Dentro de estos vectores, los más utilizados son los virales, ya que son muy eficientes para introducir genes terapéuticos dentro de los núcleos de las células. Los genes terapéuticos se seleccionan de la enorme lista de genes humanos y no humanos completamente caracterizados que se pueden introducir en un núcleo celular para corregir o modificar un proceso bioquímico particular que producirá un beneficio para el paciente, como la corrección de la producción de la enzima requerida en una ruta metabólica, la manipulación de elementos del sistema inmune que ocasionan una enfermedad reumatológica o la modulación de procesos endócrinos para corregir una función homeostática, etc. Una vez elegido el

gen terapéutico, éste es incorporado dentro del genoma del vector. Posteriormente este vector recombinante es replicado y producido a títulos altos dentro de líneas celulares permisivas creadas especialmente para ello.

Terapia génica con vectores adenovirales

Los adenovirus humanos del grupo C han sido ampliamente caracterizados y representan un grupo especialmente atractivo de vectores virales, con utilidad potencial en los proyectos de terapia génica². Esto se debe a que la infección por este tipo de virus provoca síntomas relativamente benignos sin llegar a provocar citotoxicidad y tienen un potencial oncogénico bajo; además, su manipulación *in vitro* es muy sencilla y se pueden producir títulos muy elevados del vector. Una ventaja adicional se deriva del hecho de que el ADN viral no se incorpora a los cromosomas de las células huésped, minimizándose de esta manera la posibilidad de mutagénesis por inserción o efectos potenciales sobre las células germinales². La cepa Ad5 perteneciente al grupo C, es la más frecuentemente utilizada en los protocolos de terapia génica.²

Tipos de terapias génicas para el cáncer

Existen diferentes estrategias de terapia génica para el cáncer. Entre éstas se encuentran la inmunoterapia, en la cual el gen terapéutico tiene la finalidad de incrementar la respuesta inmune en contra del tumor; la reversión fenotípica en donde se busca que la célula neoplásica revierta su fenotipo a célula normal; la terapia de incremento de la resistencia a antineoplásicos, la cual se administra a las células normales que pueden afectarse por este tipo de tratamientos y prepara al paciente para recibir dosis más agresivas del fármaco; la terapia génica aumentadora, en la que la terapia génica se combina simultáneamente con quimioterapia o radioterapia potenciando el efecto terapéutico y por último, la terapia génica suicida o de citotoxicidad condicionada, la cual representa la terapia génica más utilizada en cáncer. En esta categoría terapéutica, los genes introducidos en las células tumorales codifican para proteínas “foráneas” no humanas que

Cuadro I. Ventajas y desventajas de vectores de terapia génica

Vectores		Ventajas	Desventajas
Virales	Retrovirus	Alta eficiencia de transducción Integración y expresión prolongada Alto margen de tipos celulares Baja respuesta inmunológica	Transduce células en división activa Mutagénesis insercional
	Adenovirus	Alta eficiencia de transducción Integración y expresión prolongada Alto margen de tipos celulares Baja respuesta inmunológica	Transduce células en división activa Mutagénesis insercional
	Virus adeno-asociados	Alta eficiencia de transducción Alto margen de tipos celulares Altos títulos Transducción de células quiescentes o en transducción activa	Contaminación con adenovirus silvestre
	Lentivirus	Alta eficiencia de transducción Alto margen de tipos celulares Transducción de células quiescentes o en transducción activa	Bajos títulos Mutagénesis insercional
No virales	Liposomas	No mutagénesis ni oncogénesis Baja respuesta inmunológica	Baja eficiencia de transducción
	DNA "desnudo"	No mutagénesis ni oncogénesis Baja respuesta inmunológica	Baja eficiencia de transducción

convierten a un medicamento biológicamente inactivo (pro-droga), como el ganciclovir (GCV), en un compuesto que es tóxico para el tumor.

Terapia génica suicida con vector adenoviral y el sistema tk/GCV

El gen de la enzima timidin quinasa del virus Herpes simplex I (HSV-tk) se está utilizando en varios protocolos a nivel mundial para tratar el cáncer, ya que esta enzima en las células tumorales blanco es capaz de convertir al GCV (un análogo acíclico de las purinas) en GCV monofosfato, el cual es posteriormente trifosfatado por las quinasas celulares. Este compuesto final se incorpora a las cadenas nascentes del ADN durante la replicación tumoral y bloquea este proceso.³ Adicionalmente se ha reportado que este tratamiento es capaz de amplificar su capacidad citotóxica mediante el efecto de testigo,⁴ en el cual las células tumorales vecinas a las impactadas por el gen terapéutico también son aniquiladas, y por la activación de la respuesta celular inmune en contra del tumor; ambos verificados en modelos murinos de cáncer de próstata.⁵ De esta forma es razonable esperar una respuesta sistémica antitumoral que podría afectar a las me-

tástasis. El efecto de testigo se logra mediante la exportación del GCV trifosfatado a través de las uniones comunicantes (gap junctions, en inglés) entre las células transducidas y las que no fueron impactadas por el vector de terapia génica.⁶ Este mecanismo de amplificación del efecto citotóxico es crucial, debido a las limitaciones para introducir genes en la totalidad de la población tumoral. Los mecanismos de activación inmune celular antitumoral posteriores al tratamiento con el sistema HSV-tk/GCV, también afectan la progresión de procesos metastásicos en algunos modelos. Los riesgos de citotoxicidad para las células estromales o vecinas al tumor tratado son mínimos, pues los dos primeros mecanismos descritos afectan casi selectivamente a las células en división activa, como las células tumorales, teniendo un efecto casi nulo en las células quiescentes.

Terapia génica de cáncer de próstata en Monterrey

Actualmente se está llevando a cabo un protocolo de terapia génica para el cáncer de próstata fase I-II en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León en Monterrey, el cual tiene los objetivos de evaluar la toxicidad sistémica y la

eficacia antitumoral del sistema suicida HSV-tk/GCV en pacientes con cáncer de próstata intraglandular o extracapsular incipiente (estadios A, B y C₁) antes de ser sometidos a los tratamientos estándares consistentes en prostatectomía para los estadios A y B, y radioterapia focalizada para el estadio C₁. El esquema de terapia génica con el sistema HSV-tk/GCV ya ha sido estudiado en sujetos humanos con neoplasias, incluyendo este tipo de cáncer.⁷ Durante esta evaluación aproximadamente 30 pacientes serán inyectados intratumoralmente con el vector de terapia génica HSV-tk y recibirán la administración endovenosa de la prodroga GCV durante 14 días. Seis semanas después de la inyección del vector, se realizará prostatectomía total o radioterapia, según el estadio clínico del tumor al ingreso del estudio. En este estudio se vigilarán estrechamente los efectos tóxicos del esquema de terapia génica, mediante un cuidadoso seguimiento clínico y de laboratorio. Este monitoreo se realizará diariamente durante las primeras dos semanas de tratamiento y posteriormente, se realizará una evaluación periódica que pretende determinar la sobrevivencia de los pacientes. Adicionalmente, se analizará la eficacia terapéutica del procedimiento a través del seguimiento de los niveles séricos del antígeno prostático específico (APE) en aquellos pacientes que fueron sometidos a radioterapia. Después de la prostatectomía en los estadios A y B, el espécimen quirúrgico será sometido a análisis histopatológico y molecular para determinar los efectos de la inyección del vector, la distribución y la expresión del gen terapéutico HSV-tk, análisis que serán de gran trascendencia ya que hasta la fecha no hay estudio que describa estos efectos a nivel prostático en humanos. Adicionalmente, en el estudio propuesto se estudiará la emisión del vector viral en los fluidos corporales (sangre, orina y semen en los casos factibles), para analizar las posibles repercusiones ambientales del tratamiento por terapia génica.

Por el momento, las intervenciones propuestas son una adición al esquema estandarizado para el manejo del cáncer de próstata en el Hospital Universitario de la UANL. La implementación de este protocolo no intenta remplazar al tratamiento tradicional y no implica riesgos adicionales para los sujetos participantes. En caso de respuestas positivas al tratamiento, se proporcionaría un beneficio al paciente al disminuir la tasa de recurrencia y de metástasis en este tumor y se produciría un enorme impacto para el conocimiento médico, abriendo el camino para una nueva terapia que probablemente en un futuro se convierta en terapia estándar para el cáncer de próstata.

Referencias

1. Estadísticas vitales, grupo de edad: posproductiva. Capítulo mortalidad, 1998. SSA.
2. **Horwitz MS.** Adenovirae and their replication. In: *Fundamental virology*. Eds. Fields BN; New York, Raven Press, 1991:771-813.
3. **Moolten F.** Drug sensitivity ("suicide") genes for selective cancer chemotherapy. *Cancer Gene Ther* 1994;1:279-287.
4. **Freeman SM, Abboud CN, Whartenby KA, Packman CH, Koepfli DS, Moolten FL, Abraham GN.** The "bystander effect": Tumor regression when a fraction of the tumor mass is genetically modified. *Cancer Res* 1993;53:5274-5283.
5. **Hall SJ, Sanford MA, Atkinson G, Chen SH.** Induction of potent antitumor natural killer cell activity by Herpes simplex virus-thymidine kinase and ganciclovir therapy in an orthotopic mouse model of prostate cancer. *Cancer Res* 1998;58:3221-3225.
6. **Carystinos GD, Katabi MM, Laird DW, Galipeau J, Chan H, Alaoui-Jamali MA, Batist G.** Cyclic-AMP induction of gap junctional intercellular communication increases bystander effect in suicide gene therapy. *Clin Cancer Res* 1999;5:61-8.
7. **Herman JR, Adler HL, Aguilar-Cordova E, Rojas-Martinez A, et al.** In situ gene therapy for adenocarcinoma of the prostate: a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther* 1999;10:1239-1249.