

Terapia génica para la insuficiencia cardiaca: un tratamiento en fase de investigación que está llegando a su madurez

Donna Mancini y Mary Jane Farr

Departamento de Medicina. División de Cardiología. Facultad de Medicina y Cirugía. Universidad de Columbia. Nueva York. Estados Unidos.

Durante las últimas dos décadas, y a pesar de los avances en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca con la adición de nuevos fármacos y dispositivos muy eficaces, el número de pacientes con insuficiencia cardiaca continúa aumentando. Este trastorno es el resultado final de diversos procesos patológicos, como la enfermedad coronaria, la hipertensión, el abuso de alcohol y ciertas infecciones. Sea cual sea la etiología de la insuficiencia cardiaca, en el miocito cardiaco se producen múltiples cambios de la expresión genética de las proteínas contráctiles que pueden constituir dianas efectivas para terapias moleculares¹. La posibilidad de que la terapia génica pueda mejorar la función cardiaca a través de una normalización de la expresión genética de las proteínas contráctiles es un camino abierto a la investigación clínica activa en el siglo XXI. Esta breve revisión describe la situación inicial de la terapia génica para la insuficiencia cardiaca.

Terapia génica

La terapia génica es la inserción de un gen en una célula humana para tratar una enfermedad. Puede ser una enfermedad hereditaria con un defecto genético definido, como la fibrosis quística, la distrofia muscular o la hemofilia. Algunas miocardiopatías tienen una base genética, como la miocardiopatía hipertrófica. Sin embargo, la terapia génica puede utilizarse también para normalizar la expresión de genes que sufren una regulación negativa en un estado de enfermedad. En la insuficiencia cardiaca, el miocito cardiaco responde

a una tensión fisiológica, es decir, a una sobrecarga de volumen o de presión, mediante la activación de lo que se ha denominado un «programa génico fetal»². Esta respuesta hipertrófica se asocia a una disminución de la expresión genética de varias proteínas cruciales, incluida una reducción de la expresión de la cadena pesada de miosina alfa, la cadena pesada de miosina beta, la ATPasa del retículo sarcoplásmico (SERCA2a) y el fosfolambano. Diversos tratamientos farmacológicos y dispositivos utilizados para la insuficiencia cardiaca, como el bloqueo neurohormonal, la descarga mecánica con dispositivos de ayuda ventricular izquierda³ y la resincronización cardiaca, producen un «remodelado» molecular de estos cambios genéticos y se restablece la normalidad de la expresión genética². Estos efectos del remodelado molecular se asocian a una mejora de la función ventricular izquierda y son posibles dianas de la terapia génica.

Aplicación de la terapia génica

La terapia génica requiere la transferencia del gen terapéutico a las células del paciente. El sistema de aplicación habitual se basa en el empleo de vectores, que con frecuencia son de origen viral¹. Los vectores virales habituales son retrovirus, adenovirus y virus adenoasociados. Los vectores consistentes en adenovirus se utilizaron por primera vez a finales de los años noventa, pero surgieron preocupaciones importantes respecto al posible carácter patógeno del vector tras la muerte de un paciente joven que recibió este tratamiento en un ensayo clínico inicial. Además, algunos virus como los adenovirus generan una respuesta inflamatoria que reduce la efectividad a largo plazo de este tratamiento e impide la aplicación repetida a causa de la respuesta inmunitaria secundaria. Los virus adenoasociados son virus de ADN de una sola hebra, pequeños, derivados de la familia de los parvovirus⁴. Los virus adenoasociados recombinantes contienen tan sólo el gen terapéutico y no pueden integrarse en el genoma humano. El gen terapéutico queda libre en el núcleo de la célula. No sufre una replicación si la célula se divide. Los virus adenoasociados

Declaración de conflictos de intereses: la Prof. Mancini es consultora de Celladon Corporation. Su función es la interpretación de las pruebas cardiorrespiratorias en el ensayo de fase I/II Cupid.

Correspondencia: Dra. Donna Mancini.
División de Cardiología. Columbia University College of Physicians & Surgeons.
622 West 168th Street, PH1273. New York, NY 10032. Estados Unidos.
Correo electrónico: dmm31@columbia.edu

Full English text available from: www.revespcardiol.org

no son patógenos y tienen una inmunogenicidad mínima, pero son difíciles de producir y generalmente aportan tan sólo cantidades pequeñas de ADN. Sin embargo, el hecho de que este vector no sea patógeno lo ha convertido en una opción atractiva en los ensayos clínicos actuales. Además, algunos virus adenoasociados muestran un tropismo selectivo por el tejido cardiaco. El único ensayo en la insuficiencia cardiaca humana en el que se está investigando actualmente la terapia génica utiliza un virus adenoasociado como mecanismo de aporte del gen⁴.

Aplicación de la terapia génica en la insuficiencia cardiaca

Se han identificado varias posibles dianas para la terapia génica en los pacientes con insuficiencia cardiaca, a partir de experimentos en los que se han utilizado modelos de ratones transgénicos. Estas dianas son, entre otras, las siguientes: SERCA2a, fosfolambano, receptor de cinasa acoplada a proteína G 2, proteína fosfatasa 1 y adenilato ciclasa¹.

El ciclo del calcio, que se produce a través de la acción de la SERCA2a, es un mecanismo de control crucial por lo que se refiere a la contracción cardiaca. Durante el potencial de acción, el calcio entra en la célula a través de los canales del calcio de tipo L, en forma de una corriente de entrada de calcio. Esta entrada de calcio desencadena una liberación de calcio del retículo sarcoplásmico hacia el citosol, a través de la activación del receptor de rianodina. El aumento del calcio libre citoplásmico permite que el calcio se una a la troponina C, con lo que se desencadena la contracción. La relajación depende de la liberación y la reducción del calcio citosólico. Esto requiere un transporte de calcio que lo extraiga del citosol a través de múltiples vías, como las de la SERCA2a, la bomba de intercambio de sodio-calcio, el transporte mitocondrial y los receptores de rianodina. La SERCA2a elimina hasta un 90% del calcio intracelular en los roedores y un 70% en el ser humano y en los animales de gran tamaño. En el corazón en insuficiencia se observa un manejo anormal del calcio celular. El aumento de actividad del mecanismo de intercambio de sodio-calcio, la reducción de la actividad de la SERCA2a, el valor más bajo de la proporción de fosfolambano/SERCA2a y el aumento de la fosforilación de los receptores de rianodina, que produce una tendencia a la «fuga», comportan una disminución del contenido de calcio del retículo sarcoplásmico y una prolongación de la oscilación de las concentraciones de calcio. Cualquiera de estas proteínas puede ser diana molecular para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca^{1,4-6}.

Hasta el momento se ha estudiado la ATPasa del calcio del retículo sarcoplásmico (SERCA2a)^{7,8} y el

receptor de cinasa acoplada a la proteína G 2 (GRK2 o BARK1)⁹ en modelos animales empleando transferencia génica mediante vectores virales adenoasociados.

Limitar la desensibilización de los receptores beta inhibiendo la GRK2 puede ser una estrategia molecular útil en la insuficiencia cardiaca. En un modelo de la insuficiencia cardiaca en ratas, la inyección intramiocárdica directa de la cinasa del receptor beta-adrenérgico produjo una mejora de la contractilidad cardiaca y revirtió el remodelado ventricular izquierdo⁹. No se han presentado todavía estudios en los que se haya utilizado este enfoque en modelos de animales más grandes.

La terapia génica con SERCA2a se ha estudiado en modelos de animales pequeños y grandes, y está siendo evaluada actualmente en el ser humano. El Dr. Roger Hajjar ha sido pionero en el uso de la terapia con SERCA2a en la insuficiencia cardiaca⁶. El estudio inicial de «prueba de concepto» se publicó en 1999⁵ y puso de relieve que los miocitos humanos en situación de insuficiencia mostraban una normalización de la contractilidad tras la transferencia del gen de la SERCA2. La SERCA2a estaba sobreexpresada en los miocitos ventriculares humanos de 10 pacientes con insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) en fase terminal. La sobreexpresión de la SERCA2a produjo un aumento de la expresión de la proteína SERCA2¹⁰ y la actividad de bombeo, con una mayor velocidad de contracción y un aumento de la relajación. Posteriormente el grupo de Hajjar demostró la eficacia de esta terapia en modelos de la insuficiencia cardiaca en animales pequeños y grandes. En un modelo de insuficiencia cardiaca en ratas causada por una constricción de la aorta ascendente, el aumento de la expresión de la SERCA2a obtenido mediante la transferencia génica mejoró la función ventricular^{7,8}. Además, en las ratas que recibieron la terapia génica, la sobreexpresión del gen de la SERCA2a prolongó la supervivencia, normalizó los volúmenes ventriculares izquierdos y mejoró el metabolismo cardiaco, en comparación con las ratas de control a las que se aplicó un tratamiento simulado¹¹.

Se observaron resultados similares con el empleo de un modelo de animal grande. En cerdos, se indujo una insuficiencia cardiaca por sobrecarga de volumen mediante la sección de las cuerdas tendinosas del aparato valvular mitral¹². Tras 2 meses de insuficiencia mitral severa, a 16 cerdos se les aplicó intracoronariamente el vector de virus adenoasociado recombinante 1 (portador de SERCA2a) mientras que otros 6 animales recibieron una solución salina. Los animales tratados presentaron una mejora de la contracción ventricular izquierda (VI) con un valor significativamente superior de la dp/dt

VI y una disminución del volumen ventricular, en comparación con los animales de control. Además, los animales tratados presentaron un restablecimiento de la normalidad en la expresión del gen de la SERCA2a. La cinética de la expresión del gen del virus adenoasociado de serotipo 1 (AAV1) resultó dependiente de la dosis, con un aumento significativo de la expresión génica al llegar a la cuarta semana tras su administración. Se demostró una expresión del gen a largo plazo. Estos estudios en animales fueron la base para pasar al primer ensayo de la terapia génica humana en individuos con insuficiencia cardíaca.

El Calcium Upregulation by Percutaneous Administration of Gene Therapy in Cardiac Disease (CUPID) es un estudio de fase I/II en el que se investiga la seguridad y la actividad biológica de la terapia sustitutiva de SERCA2a en la insuficiencia cardíaca humana^{13,14}. La población en estudio la formaron pacientes con ICC de clase III/IV que presentaban una fracción de eyección ventricular izquierda < 30% y un consumo máximo de oxígeno < 16 ml/kg/min. Todos ellos eran portadores de desfibriladores implantables y habían recibido tratamiento oral, ambulatorio, crónico y estable para la insuficiencia cardíaca durante un mínimo de 30 días. Antes de la inclusión en el ensayo, se efectuó un examen de detección de anticuerpos neutralizantes contra la proteína de la cápside del virus. Aproximadamente el 60% de los pacientes tenían títulos de anticuerpos neutralizantes > 1:2. Se consideró elegibles para el estudio a los pacientes con títulos de anticuerpos neutralizantes contra la proteína de la cápside del virus AAV1 ≤ 1:2. Dado el elevado porcentaje de pacientes con anticuerpos neutralizantes, si este tratamiento resulta eficaz finalmente, estos anticuerpos serán un factor limitante. Además, si el paciente presentaba una enfermedad coronaria, se revisaron las angiografías coronarias para determinar si la anatomía impedía una aplicación adecuada del producto génico. Se excluyó a los pacientes con antecedentes de *bypass* arterial coronario previo o con estenosis del tronco de la coronaria izquierda o del *ostium* en la coronaria derecha. Otros criterios de exclusión importantes fueron el tratamiento durante los últimos 30 días con una medicación inotrópica intravenosa, las miocardiopatías restrictivas, infiltrativas u obstructivas, el infarto de miocardio en los 6 meses previos o la presencia de una enfermedad renal o hepática intrínseca grave.

El estudio de seguridad consistió en la administración intracoronaria de MYDICAR (AAV1/SERCA2a; Targeted Genetics Corporation; Seattle, Washington, Estados Unidos) en dosis crecientes. La infusión intracoronaria se realizó con catéteres estándar conectados a un sistema an-

giográfico MEDRAD Mark V ProVis (Indianola, Pennsylvania, Estados Unidos). Se incluyeron en el estudio cuatro niveles de dosis en grupos de 3 pacientes, separados entre sí por un lapso, con objeto de determinar la seguridad y la dosis adecuada. Se administró una única infusión anterógrada de AAV1/SERCA2a durante 10 min, empezando con dosis de $1,4 \times 10^{11}$, 6×10^{11} o 3×10^{12} . Se utilizaron análisis con los métodos Enzyme Linked ImmunoSPOT (ELISPOT) para valorar la posible respuesta celular a las proteínas de la cápside del AAV1. Las evaluaciones de la eficacia se basaron en ecocardiografías bidimensionales y tridimensionales, la clase de la New York Heart Association, el Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire, pruebas de distancia recorrida en 6 min, pruebas de esfuerzo cardiorrespiratorias, determinaciones de biomarcadores (BNP) y variables de evolución clínica (mortalidad por todas las causas, hospitalización por insuficiencia cardíaca y necesidad de medicación intravenosa). Las evaluaciones de la seguridad incluyeron determinaciones del hemograma completo, enzimas cardíacas, ELISPOT, bioquímica sérica, electrocardiogramas y obtención de datos del registro del desfibrilador implantable.

Recientemente se han presentado los resultados obtenidos en los primeros 9 pacientes con insuficiencia cardíaca incluidos en el estudio. Se describen también los datos de seguridad tras 6 a 12 meses de seguimiento, en cuanto a calidad de vida, evaluación funcional y ecocardiografías. Se estudió a 7 varones y 2 mujeres, todos ellos con ICC de clase III de la New York Heart Association. La media de edad era 52 ± 7 años, la fracción de eyección ventricular izquierda era del $22\% \pm 5\%$, y la VO_2 máxima era de $14,2 \pm 2,5$ ml/kg/min. Todos los pacientes toleraron las infusiones intracoronarias y no sufrieron acontecimientos adversos significativos. No hubo indicio alguno de aumento de la extrasistolia ventricular, no se produjeron efectos sistémicos y no hubo ningún caso de miocarditis. Tan sólo 1 paciente presentó una elevación transitoria en el ensayo ELISPOT cuando sufrió un síndrome viral de vías respiratorias altas coexistente. Ocho de los 9 pacientes continuaban con vida en el momento de la presentación. Un paciente falleció de forma súbita más de 3 meses después de la aplicación de la SERCA2a. Este paciente tenía el antecedente de un episodio de muerte súbita, y su fallecimiento se atribuyó a la progresión natural de la insuficiencia cardíaca grave. Un paciente fue trasplantado en el mes 8 y otro sufrió un deterioro de su estado que obligó a utilizar un dispositivo de asistencia mecánica. Los 2 pacientes tratados con un trasplante o un dispositivo mecánico tenían concentraciones de anticuerpos neutralizantes de 1:2. De los 7 pacientes

sin anticuerpos neutralizantes, 5 presentaron mejoría sintomática; 4, mejoría funcional y 5, mejora del remodelado VI. Sobre la base de estos resultados iniciales, ya se ha incluido a 34 pacientes en un ensayo de fase II. Dos de cada 3 pacientes reciben el tratamiento activo. El reclutamiento de los pacientes ha finalizado y actualmente se están obteniendo datos, con vistas a la presentación de los resultados en 2010.

Conclusiones

La terapia génica parece haber sido bien tolerada y segura en un pequeño estudio de pacientes con insuficiencia cardiaca. Los resultados de un ensayo de fase II, controlado con placebo, en el que se utiliza la terapia génica con SERCA2a, serán de gran interés y marcarán el comienzo de lo que pueden ser muchos ensayos futuros sobre terapia génica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vinge L, Raake P, Koch W. Gene therapy in Heart Failure. *Circ Res*. 2008;102:1458-70.
2. Coppola T, Molecular remodeling in Human Heart Failure. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:137-8.
3. Burkhoff D, Klotz S, Mancini D. LVAD-induced reverse remodeling: basic and clinical implications for myocardial recovery. *J Card Fail*. 2006;12:227-39.
4. Zsebo K, Jaski B. Serca 2a Gene Transfer for Heart Failure. *Touch Briefings 2009*. US Cardiology. London: Touch Group; 2009. p. 46-9.
5. Minamisawa S, Hoshijima M, Chu G, Ward CA, Frank K, Gu Y, et al. Chronic phospholamban sarcoplasmic reticulum calcium ATPase interaction is the critical calcium cycling defect in dilated cardiomyopathy. *Cell*. 1999;99:313-22.
6. Meyer M, Schillinger W, Pieske B, Holubarsch C, Heilmann C, Posival H, et al. Alterations of sarcoplasmic reticulum proteins in failing human dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 1995;92:778-84.
7. Hajjar R, Kang J, Gwathmey J, Rosenzweig A. Physiological effects of adenoviral gene transfer of sarcoplasmic reticulum calcium ATPase in isolated rat myocytes. *Circulation*. 1997;95:423-9.
8. Miyamoto MI, Del Monte F, Schmidt U, DiSalvo TS, Kang ZB, Matsui T, et al. Adenoviral gene transfer of SERCA2a improves left-ventricular function in aortic banded rats in transition to heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:973-8.
9. Rengo G, Lymperopoulos A, Zincarelli C, Donnicuio M, Soltys S, Rabinowitz J, et al. Myocardial adeno-associated virus serotype 6-BARKct gene therapy improves cardiac function and normalizes the neurohormonal axis in chronic heart failure. *Circulation*. 2009;119:89-98.
10. Del Monte D, Harding S, Schmidt U, Matsui T, Kang ZB, Dec GW, et al. Restoration of contractile function in isolated cardiomyocytes from failing human hearts by gene transfer of SERCA2a. *Circulation*. 1999;100:2308-11.
11. Del Monte F, Williams E, Lebeche D, Schmidt U, Rosenzweig A, Gwathmey K, et al. Improvement in patient survival and cardiac metabolism after gene transfer of sarcoplasmic reticulum Ca ATPase in a rat model of heart failure. *Circulation*. 2001;104:1424-9.
12. Kawasi Y, Ly H, Pruner F, Lebeche D, Shi Y, Jim H, et al. Reversal of cardiac dysfunction after long term expression of Serca 2a by gene transfer in a pre-clinical model of heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:1112-9.
13. Hajjar R, Zsebo K, Deckelbaum L, Thompson C, Rudy J, Yaroshinsky A, et al. Design of a phase 1 / 2 trial of intracoronary administration of AAVI/Serca 2a in patients with heart failure. *J Cardiac Fail*. 2008;14:355-67.
14. Jaski B, Jessup M, Mancini D, Coppola T, Pauly D, Greenberg B, et al. Calcium upregulation by percutaneous administration of gene therapy in cardiac disease (Cupid Trial) a first in human phase 1 / 2 Clinical Trial. *J Cardiac Failure*. 2009;15:171-81.