

# Tratamiento génico del hepatocarcinoma

RUBÉN HERNÁNDEZ-ALCOCEBA<sup>a</sup> Y JESÚS PRIETO VALTUEÑA<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Área de Terapia Génica y Hepatología. CIMA de la Universidad de Navarra. Pamplona. Navarra. España.

<sup>b</sup>CIBERhed. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona. Navarra. España.

El tratamiento génico consiste en la transferencia de material genético en un organismo con la finalidad de corregir una enfermedad. Con esta designación se engloba un amplio repertorio de estrategias, todavía en fase de experimentación, con aplicación potencial en prácticamente todas las enfermedades humanas<sup>1</sup>. El tipo de material genético y, por tanto, sus funciones y las aplicaciones que se derivan de ellas pueden ser muy diversas. Así, el tratamiento génico puede consistir en la transferencia de una secuencia codificante y sus elementos reguladores para expresar una proteína deficitaria en la célula. Pero también puede tener como objetivo la inhibición de la expresión de genes (utilizando ácido desoxirribonucleico [ADN] antisentido,

ácido ribonucleico [ARN] de interferencia, etc.); la reparación de mutaciones en genes endógenos; o la expresión de proteínas que no restituyen un déficit genético concreto, pero producen un efecto terapéutico (estimulación de la respuesta inmunitaria, modulación de la respuesta a fármacos, autodestrucción de células cancerosas, etc.). Desde sus comienzos, una de las principales áreas de investigación en tratamiento génico ha sido el tratamiento del cáncer<sup>1</sup>. En la tabla 1 se resumen las estrategias más utilizadas.

Para poder ejercer su efecto biológico, el material genético debe introducirse en la célula diana, y esto se consigue mediante los denominados vectores<sup>2,3</sup>. Éstos son muy variados, pero se pueden agrupar en vectores virales y no virales (tabla 2). En el primer caso, los virus son desprovistos de algunos o de todos sus genes endógenos, para impedir la replicación viral y acomodar los genes terapéuticos. De esta manera, el virus funciona sólo como un vehículo para el material genético. Los vectores pueden administrarse directamente al paciente (tratamiento génico in vivo), o se pueden introducir en células aisladas que luego se introducen en el organismo (tratamiento génico ex vivo).

## Puntos clave

● El tratamiento génico consiste en la transferencia de material genético a las células de un organismo con la finalidad de obtener un efecto terapéutico.

● La transferencia génica puede tener como consecuencia la activación o la inhibición de la expresión de proteínas en la célula, o la corrección de genes defectuosos.

● Las estrategias más utilizadas en el tratamiento génico contra el cáncer comprenden la inhibición de oncogenes, la expresión de genes oncosupresores, genes citotóxicos, genes antiangiogénicos, genes inmunostimuladores o la acción directa de virus oncolíticos.

● Los vectores (virales o no) son los vehículos encargados de hacer llegar el material genético a las células diana, y su funcionamiento es crucial para el tratamiento génico.

● El hígado es un órgano de fácil acceso para la mayoría de vectores, pero la ineficacia de la transferencia génica en el interior de los hepatocarcinomas limita actualmente el éxito del tratamiento génico.

## EL HEPATOCARCINOMA COMO DIANA DEL TRATAMIENTO GÉNICO

El hepatocarcinoma es el tumor primario más frecuente del hígado y, a pesar de ello, el tratamiento curativo basado en cirugía o trasplante hepático sólo es aplicable en una proporción reducida de los casos<sup>4</sup>. Por ello, son muy necesarios métodos alternativos o adyuvantes a los tratamientos convencionales. En principio, el hígado es un órgano favorable para el uso de el tratamiento génico. Por una parte, el parénquima hepático ejerce una función de filtro en los vectores que se administran de forma sistémica. Ello facilita la transferencia de material genético en este órgano, y además ciertos vectores, como adenovirus, tienen un marcado tropismo hepático<sup>5</sup>. Por otra parte, las técnicas desarrolladas para la embolización de los tumores asentados en el hígado pueden utilizarse para administrar los vectores y lograr un efecto más selectivo.

## TRANSFERENCIA DE GENES SUPRESORES DE TUMORES E INHIBICIÓN DE ONCOGENES

El tratamiento génico puede incidir en la base del cáncer e inhibir la expresión de oncogenes, o transferir copias correctas de genes supresores de tumores que han presentado deleciones o mutaciones. De esta manera, las células tumorales recuperan su respuesta a estímulos proapoptóticos, y se vuelven más sensibles a la quimioterapia<sup>6</sup>. El mayor obstáculo de esta estrategia es el porcentaje bajo de células del tumor que son accesibles a los vectores y, por tanto, corregidas.

La pérdida funcional de *p53* es una alteración frecuente en muchos tipos de cáncer, incluido el hepatocarcinoma<sup>7</sup>. Por ello, se han desarrollado diversos métodos de transferencia de este gen. Incluso en China se ha aprobado un vector basado en adenovirus con el nombre de Gendicine<sup>®</sup> para el tratamiento de cánceres de cabeza y cuello<sup>8</sup>. En pacientes de hepatocarcinoma, Gendicine<sup>®</sup> podría incrementar la tasa de respuesta de la quimioembolización transarterial, pero todavía son necesarios más estudios para tener pruebas concluyentes.

Respecto a los oncogenes, en modelos animales se ha demostrado que la inhibición de las rutas de ciertos factores de crecimiento, como FGF (*fibroblast growth factor*)<sup>9</sup>, VEGF (*vascular endothelial growth factor*)<sup>10</sup>, IGF-I (*insulin-like growth factor*)<sup>11</sup>, PTTG1 (*pituitary tumor transforming gene*)<sup>12</sup>; proteínas antiapoptóticas, como survivina<sup>13</sup>; elementos de la ruta de Wnt<sup>14</sup>, u otros genes, como ciclooxigenasa 2<sup>15</sup>, p28-GANK<sup>16</sup> o la subunidad catalítica de la telomerasa<sup>17</sup> producen un retraso del crecimiento de los tumores hepáticos.

## TRANSFERENCIA DE GENES CITOTÓXICOS O SENSIBILIZADORES DE QUIMIOTERAPIA

Al utilizar rutas de administración selectivas o modificaciones del tropismo de los vectores (*targeting*) se puede lograr una transferencia relativamente específica de genes en las células tumorales. Esto permite introducir genes "suicidas" que por diversos mecanismos (apoptosis, necrosis) causan la destruc-

**Tabla 1.** Estrategias de tratamiento génico contra el hepatocarcinoma

|  | Mecanismo   | Ejemplo  |
|--|---|--|
| Expresión de genes oncodepresores                          | Inhibición del fenotipo maligno   | <i>p53</i><br>SOCS-1   |
| Inhibición de oncogenes                                    | Inducción de apoptosis y sensibilización a quimioterapia  | VEGF<br>IGF-I<br>PTTG1<br>Wnt<br>COX-2<br>P28-GANK<br>Telomerasa                                       |
| Expresión selectiva de genes citotóxicos o proapoptóticos  | Destrucción directa de células tumorales  | Toxina diftérica<br>TRAIL  |
| Sistema enzima/profármaco                                  | Conversión de fármaco en sustancia citotóxica en el interior de las células tumorales                                   | HSV-TK/ganciclovir<br>CD/5-fluorocitosina<br>CitP450/ciclofosfamida<br>Nitroreductasa/dinitrobenzamida |
| Expresión de genes antiangiogénicos                        | Inhibición de la neoformación de vasos en los tumores   | Angiostatina<br>Endostatina<br>KDR/Flk-1<br>Nk4<br>PEDF  |
| Inmunoterapia génica                                       |   |  |
| Expresión de genes inmunoestimuladores                     | Estimulación de la proliferación y función de células del sistema inmunitario   | Diversas citocinas (GM-CSF, interleucinas, interferones, etc.) aisladas o en combinación               |
| Expresión de antígenos tumorales y moléculas coactivadoras | Favorecer el reconocimiento de células tumorales por el sistema inmunitario   | AFP  |
| Modificación génica de células efectoras                   | Aporte directo de células con capacidad de reconocer y destruir las células tumorales                                   | Receptores quiméricos de linfocitos T  |
| Inhibición de mecanismos de regulación negativa            | Depleción de células T reguladoras  | Quimioterapia<br>Anticuerpos   |
| Virus oncolíticos  | Destrucción de las células infectadas y liberación de nuevos virus. Amplificación de la expresión de genes terapéuticos | Véase tabla 3  |

AFP: alfafetoproteína; Cit: citocromo; COX: ciclooxigenasa; GM-CSF: *granulocyte/macrophage colony-stimulating factor*; HSV-TK: la timidina cinasa del virus herpes simple tipo 1; IGF-I: *insulin-like growth factor*; NK4: N-terminal axial 4 Kringle domains of hepatocyte growth factor; PEDF: *pigment epithelium-derived factor*; PTTG1: *pituitary tumor transforming gene*; P28-GANK: *p28-gankyrin*; SOCS-1: *suppressor of cytokine signaling 1*; TRAIL: *tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*; VEGF: *vascular endothelial growth factor*; Wnt: *wingless-type HMTV integration site family, member 1*.

ción de las células<sup>18,19</sup>. Una aplicación especial de este concepto es el sistema enzima/profármaco. Se basa en transferir a las células tumorales el gen de una enzima que transforma un sustrato inocuo (profármaco) en un producto tóxico. De esta forma, se logra una acumulación de sustancias citotóxicas en los tumores y una exposición menor de los tejidos sanos. Una de las enzimas más utilizadas es la timidina cinasa del virus herpes simple tipo 1 (HSV-TK)<sup>20</sup>. Una vez se consigue la expresión de HSV-TK en el tumor, se realiza el tratamiento sistémico con el profármaco ganciclovir, que penetra en todas las células, pero sólo puede iniciar su conversión a la forma citotóxica (ganciclovir-trifosfato) en las células tumorales que se hayan alcanzado por el vector. El efecto antitumoral puede extenderse más allá de estas células (efecto *by-stander*) gracias a la transmisión célula-célula de los metabolitos tóxicos y a la reacción inmunitaria del organismo. El sistema TK/ganciclovir puede utilizarse para visualizar la transferencia génica en los pacientes mediante tomografía por emisión de positrones, utilizando un derivado de ganciclovir marcado radiactivamente<sup>21</sup>. Se han desarrollado otras combinaciones de gen/profármaco con una potencia mayor y un efecto *by-stander* más extenso, como por ejemplo el sistema citosina deaminasa/5-fluorocitosina<sup>22</sup>, el citocromo P450/ciclofosfamida<sup>23</sup> y la nitroreductasa/dinitrobenzamida<sup>24</sup>. Sin embargo, una de las limitaciones principales de este abordaje sigue siendo la escasa proporción de células tumorales que son accesibles a los actuales vectores de tratamiento génico.

## INHIBICIÓN DE LA ANGIOGENIA TUMORAL

Ciertos polipéptidos, como la angiostatina<sup>25</sup>, la endostatina<sup>26</sup> y otros<sup>27</sup>, han demostrado su capacidad de inhibir la formación de nuevos vasos en los tumores y controlar su crecimiento. Teniendo en cuenta la vascularización abundante que caracteriza al hepatocarcinoma, la inhibición de la angiogenia podría ser un tratamiento efectivo. En este sentido, la transferencia génica tiene ciertas ventajas en la administración directa de las proteínas, porque los factores antiangiogénicos deben estar presentes durante tiempos prolongados para lograr su efecto, y esto podría conseguirse mediante una única administración de vectores de larga expresión<sup>26,27</sup>. También puede obtenerse un potente efecto antiangiogénico con la inhibición de las rutas de VEGF<sup>28</sup>, HGF (*hepatic growth factor*)<sup>29</sup> o Tie2<sup>30</sup>, o expresando proteínas antiangiogénicas naturales, como el PEDF (*pigment epithelium-derived factor*)<sup>31</sup> que se encuentran inhibidas en el hepatocarcinoma.

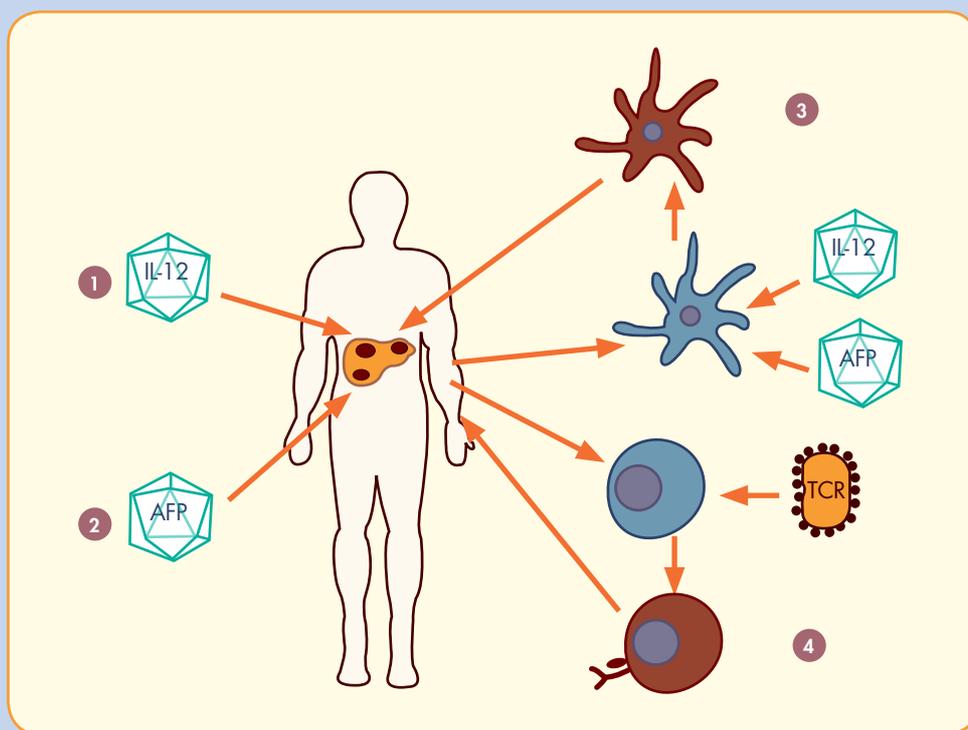
## INMUNOTERAPIA GÉNICA

La estimulación de la respuesta inmunitaria frente a las células cancerosas se investiga como mecanismo para la destrucción del tumor primario y, sobre todo, para evitar la aparición de recidivas. Por eso, la inmunoterapia puede desempeñar un papel muy importante en los protocolos de tratamiento del hepatocarci-

**Tabla 2.** Vectores de tratamiento génico

| Tipo de vector                       | Comentarios   |
|--------------------------------------|---|
| <b>Virales</b>                       |   |
| Adenovirus                           | Expresión breve debida a su elevada inmunogenicidad<br>Nuevas versiones consiguen expresión duradera y elevada capacidad de material genético |
| Retrovirus, lentivirus               | Larga expresión por integración en genoma celular<br>Peligro de alteración de genes endógenos   |
| Virus adenoasociado                  | Larga expresión con tasa de integración baja<br>Posible reacción inmunitaria frente a proteínas de la cápside                                 |
| Herpes                               | Elevada capacidad de material genético<br>Genoma complejo<br>Neurotrópico   |
| SV40                                 | Expresión mantenida de baja intensidad  |
| Alfavirus                            | Expresión muy intensa de corta duración   |
| Híbridos artificiales                | Combinación de características favorables de distintos virus  |
| <b>No virales</b>                    |   |
| Liposomas                            | Reducida toxicidad e inmunogenicidad (posibles administraciones repetidas)  |
| Partículas coloidales                | Fácil producción  |
| Complejos ADN-proteína               | Sin limitación de espacio para material genético  |
| Polietanolaminas                     | Menor eficacia que los vectores virales por el momento  |
| Chitosan                             |   |
| Electroporación                      |   |
| Sonoporación                         |   |
| Inyección directa de ADN             |   |
| Bombardeo de partículas unidas a ADN |   |
| Inyección hidrodinámica de ADN       |   |
| Células de mamífero                  | Tratamiento génico ex vivo  |
| Bacterias                            | Acumulación de bacterias anaerobias en tejidos hipóxicos  |

ADN: ácido desoxirribonucleico.



**Figura 1.** Estrategias de inmunoterapia génica contra el hepatocarcinoma. Transferencia de genes inmunostimuladores (1) directamente en el tumor o el hígado circundante. Inyección de antígenos tumorales directamente en el tumor (2). Infusión de células presentadoras de antígenos modificadas *ex vivo* para expresar citocinas inmunostimuladoras o antígenos tumorales (3). Expresión de receptores que reconocen antígenos tumorales en células efectoras (4). AFP: alfafetoproteína; IL: interleucina; TCR: T-cell receptor.

noma. Desde el punto de vista del tratamiento génico, se puede favorecer la respuesta inmunitaria antitumoral de varias maneras (fig. 1). La expresión de citocinas, como GM-CSF (*granulocyte/macrophage colony-stimulating factor*), el factor de necrosis tumoral alfa, el interferón de tipo I y II, la interleucina (IL) 2, IL-12, IL-15, IL-24, etc., ya sea de forma sistémica o localizada, ha demostrado actividad antitumoral en diversos modelos animales, sobre todo cuando se utiliza una combinación adecuada de ellas<sup>32</sup>. En pacientes con hepatocarcinoma, la inyección percutánea de un vector adenoviral portador del gen de la IL-12 fue bien tolerada, aunque no se observó un claro efecto antitumoral, probablemente debido a la brevedad y los valores bajos de expresión obtenidos<sup>33</sup>. Por ello, se están desarrollando vectores que consigan una expresión regulable y mantenida en el tiempo<sup>34</sup>. Complementariamente, se puede actuar sobre los mecanismos de regulación negativa de la respuesta inmunitaria que juegan a favor del tumor y limitan la eficacia de la inmunoterapia<sup>35</sup>. El tratamiento génico también se puede utilizar en protocolos de vacunación, donde los genes transferidos son antígenos tumorales, preferiblemente acompañados de moléculas coactivadoras<sup>36</sup>. Por otra parte, siguiendo una aproximación *ex vivo*, se induce la expresión de antígenos tumorales o citocinas en células del sistema inmunitario (especialmente, células dendríticas) que son posteriormente reintroducidos en el organismo<sup>37</sup>. Una estrategia relacionada es la inmunoterapia adoptiva basada en la expresión de receptores quiméricos en las células T citotóxicas. Estos re-

ceptores reconocen de forma específica proteínas expresadas en la superficie de las células tumorales, de forma que las células efectoras modificadas pueden atacar directamente el tumor una vez administradas al paciente<sup>38</sup>.

## VIROTERAPIA

Los llamados virus oncolíticos son aquellos que, ya sea de manera natural o mediante modificaciones genéticas, causan una destrucción preferente de las células tumorales frente a las normales. Se han desarrollado a partir de diversas familias de virus, incluidos adenovirus<sup>39-43</sup>, herpes virus<sup>44-48</sup>, poxvirus<sup>49</sup>, virus de la estomatitis vesicular<sup>50</sup>, etc. En la tabla 3 se resumen las características de los virus oncolíticos más relevantes que se han ensayado en relación con el hepatocarcinoma. Siguiendo su ciclo lítico, estos virus replican y matan a la célula, liberando una nueva generación de virus con capacidad para infectar más células y amplificar de este modo el efecto antitumoral. Sin embargo, este proceso no se ha demostrado muy eficiente en la práctica clínica, donde los pacientes suelen presentar tumores de tamaño considerable. Se ha observado cierto efecto antitumoral cuando se utilizan como adyuvantes de la quimioterapia<sup>39</sup>. Además, estos virus tienen cierta capacidad para acomodar genes exógenos cuya expresión se verá amplificada gracias a la replicación viral. De esta manera, puede combinarse el efecto oncolítico directo

**Tabla 3.** Virus oncolíticos para el tratamiento del hepatocarcinoma

| Virus oncolítico   | Características  | Gen terapéutico       | Ensayos clínicos |
|--------------------|--|-----------------------|------------------|
| <b>Adenovirus</b>  |  |                       |                  |
| ONYX-015 (CI-1042) | Deleción en el gen <i>E1B-55K</i> que dificulta la replicación en células normales   | –                     | Sí               |
| AdAFPep/Rep        | Deleción <i>E1B-55K</i> y expresión de E1A bajo el control del promotor de AFP   | –                     | –                |
| CV890              | Expresión de E1A y E1B bajo el control del promotor de AFP   | –                     | –                |
| CNHK-300           | Expresión de E1A bajo el control del promotor de la telomerasa   | –                     | –                |
| CNHK-500-p53       | Expresión de E1A bajo el control del promotor de la telomerasa y E1B bajo el control de un promotor activable por hipoxia              | –                     | –                |
| AdCN103            | Deleción parcial de E1A que dificulta replicación en células normales y expresión de E1A bajo el control del promotor de la telomerasa | –                     | –                |
| ZD55-Smac          | Deleción en el gen <i>E1B-55K</i> que dificulta la replicación en células normales   | <i>Smac</i>           | –                |
| TOA02              | Expresión de E1A bajo el control del promotor de la telomerasa con sitios de unión a E2F-1   | <i>GM-CSF</i>         | –                |
| <b>Herpes</b>      |  |                       |                  |
| G207               | Deleción de factores de neurovirulencia y los genes ICP6 (ribonucleótido reductasa) para impedir replicación en células normales       | –                     | Sí               |
| NV1020             | Deleción de factores de neurovirulencia  | –                     | Sí               |
| G92A               | Expresión de ICP4 bajo el control del promotor de albúmina   | –                     | –                |
| rRp450             | Deleción de ICP6   | Citocromo <i>P450</i> | –                |
| NV1042             | Deleción de factores de neurovirulencia  | <i>IL-12</i>          | –                |
| HSVγCD             | Deleción de ICP6   | <i>CD</i>             | –                |
| <b>VSV</b>         |  |                       |                  |
| rVSV-NDV/F         | Selectividad natural contra tumores  | Gen fusogénico        | –                |
| rVSV(MD5)-M3       | Modificaciones para disminuir toxicidad  | –                     | –                |
| <b>Poxvirus</b>    |  |                       |                  |
| JX-594             | Deleción de timidina cinasa  | <i>GM-CSF</i>         | Sí               |

CD: citosina desaminasa; E1A, E1B: *adenovirus early gene 1a, 1B*; E2F-1: *E2 transcription factor*; GM-CSF: *granulocyte/macrophage colony-stimulating factor*; ICP4,6: *infected-cell polypeptide 4,6*; IL-12: interleucina 12; Smac: *second mitochondria-derived activator of caspase*; VSV: virus de la estomatitis vesicular.

con la función antitumoral del gen correspondiente. Estos virus “armados” están comenzando a mostrar efectos prometedores en pacientes de diversos tipos de cáncer, incluido el hepatocarcinoma<sup>49</sup>. Los genes terapéuticos que parecen más efectivos son los que tienen como efecto la estimulación del sistema inmunitario, porque su acción puede estar potenciada en el contexto de la replicación viral dentro del tumor.

## CONCLUSIÓN

El tratamiento génico ofrece múltiples posibilidades para el tratamiento del hepatocarcinoma. Diversas estrategias han mostrado su eficacia en modelos animales y se han podido constatar efectos biológicos en los pacientes. Sin embargo, es necesario optimizar los vectores para lograr un nivel adecuado de transferencia génica en humanos, que permita traducir estos efectos en un beneficio clínico. Es probable que en ese momento algunas modalidades de tratamiento génico pasen a ocupar un lugar relevante dentro de un protocolo combinado para el tratamiento del hepatocarcinoma.

## BIBLIOGRAFÍA



● Importante ●● Muy importante

■ Ensayo clínico controlado

- Edelstein ML, Abedi MR, Wixon J. Gene therapy clinical trials worldwide to 2007--an update. *J Gene Med.* 2007;9:833-42.
- Patil SD, Rhodes DG, Burgess DJ. DNA-based therapeutics and DNA delivery systems: a comprehensive review. *Aaps J.* 2005;7:E61-77.
- Young LS, Searle PF, Onion D, Mautner V. Viral gene therapy strategies: from basic science to clinical application. *J Pathol.* 2006;208:299-318.
- El-Serag HB, Marrero JA, Rudolph L, Reddy KR. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2008;134:1752-63.
- Shayakhmetov DM, Li ZY, Ni S, Lieber A. Analysis of adenovirus sequestration in the liver, transduction of hepatic cells, and innate toxicity after injection of fiber-modified vectors. *J Virol.* 2004;78:5368-81.
- Fang B, Roth JA. Tumor-suppressing gene therapy. *Cancer Biol Ther.* 2003;2:S115-21.
- Hsu IC, Metcalf RA, Sun T, Welsh JA, Wang NJ, Harris CC. Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature.* 1991;350:427-8.
- Peng Z. Current status of gendicine in China: recombinant human Ad-p53 agent for treatment of cancers. *Hum Gene Ther.* 2005;16:1016-27.
- Maret A, Galy B, Arnaud E, Bayard F, Prats H. Inhibition of fibroblast growth factor 2 expression by antisense RNA induced a loss of the transformed phenotype in a human hepatoma cell line. *Cancer Res.* 1995;55:5075-9.
- Gu S, Liu CJ, Qiao T, Sun XM, Chen LL, Zhang L. Inhibitory effect of antisense vascular endothelial growth factor 165 eukaryotic expression vector on proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol.* 2004;10:535-9.
- Upegui-Gonzalez LC, Ly A, Sierzega M, Jarocki P, Trojan L, Duc HT, et al. IGF-1 triple helix strategy in hepatoma treatment. *Hepatogastroenterology.* 2001;48:660-6.
- Cho-Rok J, Yoo J, Jang YJ, Kim S, Chu IS, Yeom YI, et al. Adenovirus-mediated transfer of siRNA against PTTG1 inhibits liver cancer cell growth in vitro and in vivo. *Hepatology.* 2006;43:1042-52.

13. Sun Y, Lin R, Dai J, Jin D, Wang SQ. Suppression of tumor growth using antisense oligonucleotide against survivin in an orthotopic transplant model of human hepatocellular carcinoma in nude mice. *Oligonucleotides*. 2006;16:365-74.
14. Sangkhathat S, Kusafuka T, Miao J, Yoneda A, Nara K, Yamamoto S, et al. In vitro RNA interference against beta-catenin inhibits the proliferation of pediatric hepatic tumors. *Int J Oncol*. 2006;28:715-22.
15. Wang XH, Li SB, Tong Q, Xie GJ, Wu QM. Effects of adenovirus-mediated human cyclooxygenase-2 antisense RNA on the growth of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2005;11:6110-4.
16. Li H, Fu X, Chen Y, Hong Y, Tan Y, Cao H, et al. Use of adenovirus-delivered siRNA to target oncoprotein p28GANK in hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2005;128:2029-41.
17. Guo X, Wang W, Zhou F, Lu Z, Fang R, Jia F, et al. siRNA-mediated inhibition of hTERT enhances chemosensitivity of hepatocellular carcinoma. *Cancer Biol Ther*. 2008;7:1555-60.
18. Kunitomi M, Takayama E, Suzuki S, Yasuda T, Tsutsui K, Nagaike K, et al. Selective inhibition of hepatoma cells using diphtheria toxin A under the control of the promoter/enhancer region of the human alpha-fetoprotein gene. *Jpn J Cancer Res*. 2000;91:343-50.
19. Ma H, Liu Y, Liu S, Xu R, Zheng D. Oral adeno-associated virus-sTRAIL gene therapy suppresses human hepatocellular carcinoma growth in mice. *Hepatology*. 2005;42:1355-63.
20. Qian C, Idoate M, Bilbao R, Sangro B, Bruna O, Vazquez J, et al. Gene transfer and therapy with adenoviral vector in rats with diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma. *Hum Gene Ther*. 1997;8:349-58.
21. ● Penuelas I, Mazzolini G, Boan JF, Sangro B, Marti-Climent J, Ruiz M, et al. Positron emission tomography imaging of adenoviral-mediated transgene expression in liver cancer patients. *Gastroenterology*. 2005;128:1787-95.
22. Zhang M, Li S, Nyati MK, DeRemer S, Parsels J, Rehemtulla A, et al. Regional delivery and selective expression of a high-activity yeast cytosine deaminase in an intrahepatic colon cancer model. *Cancer Res*. 2003;63:658-63.
23. Pawlik TM, Nakamura H, Yoon SS, Mullen JT, Chandrasekhar S, Chiocia EA, et al. Oncolysis of diffuse hepatocellular carcinoma by intravascular administration of a replication-competent, genetically engineered herpesvirus. *Cancer Res*. 2000;60:2790-5.
24. Palmer DH, Mautner V, Mirza D, Oliff S, Gerritsen W, Van der Sijp JR, et al. Virus-directed enzyme prodrug therapy: intratumoral administration of a replication-deficient adenovirus encoding nitroreductase to patients with resectable liver cancer. *J Clin Oncol*. 2004;22:1546-52.
25. Fu GF, Li X, Hou YY, Fan YR, Liu WH, Xu GX. Bifidobacterium longum as an oral delivery system of endostatin for gene therapy on solid liver cancer. *Cancer Gene Ther*. 2005;12:133-40.
26. Liu H, Peng CH, Liu YB, Wu YL, Zhao ZM, Wang Y, et al. Inhibitory effect of adeno-associated virus-mediated gene transfer of human endostatin on hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2005;11:3331-4.
27. Lee K, Yun ST, Kim YG, Yoon Y, Jo EC. Adeno-associated virus-mediated expression of apolipoprotein (a) kringles suppresses hepatocellular carcinoma growth in mice. *Hepatology*. 2006;43:1063-73.
28. Goldman CK, Kendall RL, Cabrera G, Soroceanu L, Heike Y, Gillespie GY, et al. Paracrine expression of a native soluble vascular endothelial growth factor receptor inhibits tumor growth, metastasis, and mortality rate. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:8795-800.
29. Son G, Hirano T, Seki E, Iimuro Y, Nukiwa T, Matsumoto K, et al. Blockage of HGF/c-Met system by gene therapy (adenovirus-mediated NK4 gene) suppresses hepatocellular carcinoma in mice. *J Hepatol*. 2006;45:688-95.
30. Lin P, Buxton JA, Acheson A, Radziejewski C, Maisonnier PC, Yancopoulos GD, et al. Antiangiogenic gene therapy targeting the endothelium-specific receptor tyrosine kinase Tie2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:8829-34.
31. Matsumoto K, Ishikawa H, Nishimura D, Hamasaki K, Nakao K, Eguchi K. Antiangiogenic property of pigment epithelium-derived factor in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2004;40:252-9.
32. Qian C, Liu XY, Prieto J. Therapy of cancer by cytokines mediated by gene therapy approach. *Cell Res*. 2006;16:182-8.
33. Sangro B, Mazzolini G, Ruiz J, Herrera M, Quiroga J, Herrero I, et al. Phase I trial of intratumoral injection of an adenovirus encoding interleukin-12 for advanced digestive tumors. *J Clin Oncol*. 2004;22:1389-97.
34. Wang L, Hernandez-Alcoceba R, Shankar V, Zabala M, Kochanek S, Sangro B, et al. Prolonged and inducible transgene expression in the liver using gutless adenovirus: a potential therapy for liver cancer. *Gastroenterology*. 2004;126:278-89.
35. Zabala M, Lasarte JJ, Perret C, Sola J, Berroaño P, Alfaro M, et al. Induction of immunosuppressive molecules and regulatory T cells counteracts the antitumor effect of interleukin-12-based gene therapy in a transgenic mouse model of liver cancer. *J Hepatol*. 2007;47:807-15.
36. Vollmer CM, Jr., Eilber FC, Butterfield LH, Ribas A, Dissette VB, Koh A, et al. Alpha-fetoprotein-specific genetic immunotherapy for hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*. 1999;59:3064-7.
37. Mazzolini G, Alfaro C, Sangro B, Feijoo E, Ruiz J, Benito A, et al. Intratumoral injection of dendritic cells engineered to secrete interleukin-12 by recombinant adenovirus in patients with metastatic gastrointestinal carcinomas. *J Clin Oncol*. 2005;23:999-1010.
38. ● Stauss HJ, Cesco-Gaspere M, Thomas S, Hart DP, Xue SA, Holler A, et al. Monoclonal T-cell receptors: new reagents for cancer therapy. *Mol Ther*. 2007;15:1744-50.
39. ● Reid TR, Freeman S, Post L, McCormick F, Sze DY. Effects of Onyx-15 among metastatic colorectal cancer patients that have failed prior treatment with 5FU/Leucovorin. *Cancer Gene Ther*. 2005;12:673-81.
40. Li Y, Yu DC, Chen Y, Amin P, Zhang H, Nguyen N, et al. A hepatocellular carcinoma-specific adenovirus variant, CV890, eliminates distant human liver tumors in combination with doxorubicin. *Cancer Res*. 2001;61:6428-36.
41. Takahashi M, Sato T, Sagawa T, Lu Y, Sato Y, Iyama S, et al. E1B-55K-deleted adenovirus expressing E1A-13S by AFP-enhancer/promoter is capable of highly specific replication in AFP-producing hepatocellular carcinoma and eradication of established tumor. *Mol Ther*. 2002;5:627-34.
42. ● Lei N, Shen FB, Chang JH, Wang L, Li H, Yang C, et al. An oncolytic adenovirus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor shows improved specificity and efficacy for treating human solid tumors. *Cancer Gene Ther*. 2009;16:33-43.
43. Pei Z, Chu L, Zou W, Zhang Z, Qiu S, Qi R, et al. An oncolytic adenoviral vector of Smac increases antitumor activity of TRAIL against HCC in human cells and in mice. *Hepatology*. 2004;39:1371-81.
44. Bennett JJ, Delman KA, Burt BM, Mariotti A, Malhotra S, Zager J, et al. Comparison of safety, delivery, and efficacy of two oncolytic herpes viruses (G207 and NV1020) for peritoneal cancer. *Cancer Gene Ther*. 2002;9:935-45.
45. Pawlik TM, Nakamura H, Mullen JT, Kasuya H, Yoon SS, Chandrasekhar S, et al. Prodrug bioactivation and oncolysis of diffuse liver metastases by a herpes simplex virus 1 mutant that expresses the CYP2B1 transgene. *Cancer*. 2002;95:1171-81.
46. Nakamura H, Mullen JT, Chandrasekhar S, Pawlik TM, Yoon SS, Tanabe KK. Multimodal therapy with a replication-conditional herpes simplex virus 1 mutant that expresses yeast cytosine deaminase for intratumoral conversion of 5-fluorouracil to 5-fluorouracil. *Cancer Res*. 2001;61:5447-52.
47. Jarnagin WR, Zager JS, Klimstra D, Delman KA, Malhotra S, Ebricht M, et al. Neoadjuvant treatment of hepatic malignancy: an oncolytic herpes simplex virus expressing IL-12 effectively treats the parent tumor and protects against recurrence-after resection. *Cancer Gene Ther*. 2003;10:215-23.
48. Miyatake SI, Tani S, Feigenbaum F, Sundaresan P, Toda H, Narumi O, et al. Hepatoma-specific antitumor activity of an albumin enhancer/promoter regulated herpes simplex virus in vivo. *Gene Ther*. 1999;6:564-72.
49. ● Liu TC, Hwang T, Park BH, Bell J, Kirn DH. The targeted oncolytic poxvirus JX-594 demonstrates antitumoral, antivascular, and anti-HBV activities in patients with hepatocellular carcinoma. *Mol Ther*. 2008;16:1637-42.
50. Shinozaki K, Ebert O, Woo SL. Eradication of advanced hepatocellular carcinoma in rats via repeated hepatic arterial infusions of recombinant VSV. *Hepatology*. 2005;41:196-203.

## BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

Butterfield LH. Recent advances in immunotherapy for hepatocellular cancer. *Swiss Med Wkly*. 2007;137:83-90.

*Esta revisión describe el fundamento del tratamiento inmunológico aplicado al tratamiento del hepatocarcinoma, con sus distintas variantes. Se ofrece una visión general de la inmunoterapia, donde el tratamiento génico es sólo una herramienta que forma parte de algunas de las estrategias, al igual el tratamiento celular.*

Edelstein ML, Abedi MR, Wixon J. Gene therapy clinical trials worldwide to 2007—an update. *J Gene Med*. 2007;9:833-42.

*Una recopilación actualizada de información sobre ensayos clínicos llevados a cabo en el campo del tratamiento génico. Aporta una visión general del grado de desarrollo alcanzado por esta disciplina en todos los ámbitos de la medicina.*

Hernandez-Alcoceba R, Sangro B, Prieto J. Gene therapy of liver cancer. *World J Gastroenterol*. 2006;12:6085-97.

*Una revisión más extensa de las distintas estrategias de tratamiento génico que se están desarrollando actualmente para el tratamiento de los tumores primarios y metastásicos del hígado.*

Lei N, Shen FB, Chang JH, Wang L, Li H, Yang C, et al. An oncolytic adenovirus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor shows improved specificity and efficacy for treating human solid tumors. *Cancer Gene Ther*. 2009;16:33-43.

*Se trata de un trabajo reciente en el que se describe un nuevo adenovirus oncolítico que incorpora algunos de los últimos avances en este campo. Por un lado, se ha optimizado el control de la replicación viral y, por el otro, se incorpora como gen terapéutico la citocina GM-CSF, para combinar el efecto oncolítico con la estimulación del sistema inmunitario frente al tumor.*

Penuelas I, Mazzolini G, Boan JF, Sangro B, Marti-Climent J, Ruiz M, et al. Positron emission tomography imaging of adenoviral-mediated transgene expression in liver cancer patients. *Gastroenterology*. 2005;128:1787-95.

*Se trata de un ensayo clínico pionero en el que se demuestra la transferencia génica en hepatocinoma. Se describe la inyección intratumoral de un vector adenoviral portador del gen timidina cinasa, y la detección de las células que han sido infectadas y expresan el gen mediante tomografía de emisión de positrones. Este estudio indica, por un lado, la potencia de los vectores adenovirales y, por el otro, la brevedad de su efecto.*