

Pharmacological Future Perspectives in the Treatment of Age-Related Macular Degeneration (AMD) Neovascular. Part 2: Gene Therapy and Drugs in Pre-clinical Trials.

Perspectivas Farmacológicas de Futuro en el Tratamiento de la Degeneración Macular Relacionada a la Edad (DMRE) Neovascular. Parte 2: Terapia Génica y Fármacos en Estudios Pre Clínicos.

¹Miguel Leonardo Rodríguez Guanare MD

Resumen

Objetivos: Presentar una revisión acerca de la terapia génica y los fármacos en estudios preclínicos como nuevos y posibles blancos de tratamiento farmacológicos para la degeneración macular relacionada a la edad neovascular y el estado de los estudios clínicos de los mismos.

Diseño del estudio: Revisión de tema

Métodos: Se realizó una búsqueda de la literatura electrónica disponible en EMBASE, PUBMED y Google Scholar acerca del tema y

Recibido: 16/12/14
Aceptado: 05/04/15

¹Residente Farmacología Clínica
(Universidad de La Sabana, Colombia)
Calle 173A # 20A-32 Interior 1 apto 402,
Bogotá, Cundinamarca Colombia
Cel.: 573004459610
rodriguezguanare@gmail.com

El autor declara no tener ningún tipo de interés comercial o conflicto de interés.
No se recibió financiación para este estudio.

se complementa con la información encontrada en www.clinicaltrials.gov y la plataforma de registros internacionales de ensayos clínicos de la OMS.

Conclusiones: La terapia génica vinculada a la degeneración macular asociada a la edad neovascular muestra un avance científico importante en el campo de la farmacología ocular pudiendo proporcionar eficacia tras una sola inyección de un vector que puede expresar continuamente una proteína elegida. Existen estudios pre-clínicos que sugieren nuevos y diversos blancos farmacológicos para la degeneración macular relacionada a la edad mostrando un perfil de seguridad y eficacia significativo.

Palabras claves: Degeneración macular relacionada a la edad (DMRE) neovascular, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), terapia génica.

Abstract

Objectives: To review gene therapy and drugs in preclinical studies as potential new targets for pharmacological treatment for age-related macular degeneration neovascular and the state of development clinical trials.

Study design: Literature review.

Methods: A search of electronic literature available in EMBASE, PubMed and Google Scholar on the subject was performed and complemented with information found on www.clinicaltrials.gov and WHO platform of international clinical trials registers.

Conclusions: The gene therapy linked to age-related macular degeneration shows a scientific important advance in the field of the ocular pharmacology being able to provide efficiency after a single injection of a vector that can express a chosen protein. There are pre-clinical studies that suggest new and different pharmacological targets for age-related macular degeneration showing a significant safety and efficacy profile.

Keywords: Age-related macular degeneration (AMD), vascular endothelial growth factor (VEGF), gene therapy.

Introducción

La farmacología ocular continúa su avance en el campo de distintas enfermedades oculares en las cuales los procedimientos quirúrgicos han fracasado o se han mostrado inferiores, dentro de las nuevas opciones terapéuticas de los medicamentos conocidos como “biotecnológicos” se incluye la manipulación genética de vectores atenuando su virulencia y sometiéndolos a generar la(s) proteína(s) deseadas (terapia génica). La terapia génica se puede definir como el conjunto de técnicas que permiten vehiculizar secuencias de ADN o de ARN al interior de células diana, con objeto de modular la expresión de determinadas proteínas que se encuentran alteradas, revirtiendo así el trastorno biológico que ello produce.¹ Existen diversos fármacos con posibles blancos farmacológicos innovadores que se encuentran en estudios pre-clínicos (fase biológica en su mayoría) para Degeneración Macular Relacionada a la Edad (DMRE) neovascular, los cuales han mostrado eficacia y adecuada tolerabilidad en animales,

en espera de estudios pre-clínicos los cuales podrán sugerirlos como nuevas opciones de tratamiento para la DMRE neovascular tanto como monoterapia o como terapia adjunta. Estas terapias conjuntamente con las opciones de terapia génica se revisan a continuación.

Resultados

1. Terapias génicas:

La terapia génica ofrece el potencial de una sola aplicación, una sola inyección de un vector que puede expresar continuamente una proteína elegida.¹

RetinoStat®: Utiliza un vector lentiviral para entregar directamente sobre la retina dos proteínas anti-angiostáticas las cuales son endostatina y angiostatina con los objetivos de preservar y mejorar la visión de pacientes a través de anti-angiogénesis, que inhibe la neovascularización.^{2,3} Basándose en los datos preclínicos, la compañía anticipa que RetinoStat® puede requerir una sola administración, dando al producto una ventaja significativa en el mercado respecto a los tratamientos disponibles en la actualidad los cuales requieren una administración repetida.³ Actualmente se encuentran en desarrollo 2 estudios fase 1: el NCT01301443 cuyo objetivo es determinar tolerabilidad en escalada de dosis y seguridad del fármaco. Y el NCT01678872 que tiene por objetivo determinar la seguridad con el uso a largo plazo, ambos estudios se encuentran en fase activa el NCT01678872 en reclutamiento y el NCT01301443 aún no ha comenzado el periodo de reclutamiento.

Adeno virus - asociados 2(AAV2): Los Adeno virus asociados (AAV) han ganado campo en la terapia génica debido a su ausencia

de patogenicidad humana, baja toxicidad y en particular su expresión a largo plazo.⁴ Los AAV2 usados como vectores de terapia génica se han empleado como candidatos para la terapia de varios trastornos.⁵ Recientemente se ha dirigido su uso a enfermedades oculares con resultados alentadores.⁶ Se ha desarrollado una replicación recombinante defectuosa de AAV2 como vector para el tratamiento de DMRE que expresa una porción del receptor sFlt1 del VEGF denominada sFlt01.⁷ sFLT01 vinculado a un dominio Fc humano codifica el dominio 2 de sFlt1 del VEGF.⁵ Uno de los aglutinantes de VEGF de origen natural más potentes es el receptor de VEGF Flt-1.⁷ Un estudio pre clínico ha demostrado que el serotipo 2 de virus adeno-asociado (AAV2) que media la entrega de genes intravítrea de sFLT01 inhibe eficazmente la angiogénesis en el modelo de retinopatía inducida por oxígeno en ratones, sin observaciones histológicas de toxicidad, con presencia ocular persistente de sFLT01 para un máximo de 12 meses después de la inyección.⁶ El estudio fase I (NCT01024998) está en marcha y será útil para determinar el impacto de la naturaleza inflamatoria del vector y la variabilidad de expresión sFLT01 en la seguridad y eficacia de la terapia intravítrea y el estudio NCT01494805 fase I/II el cual se encuentra en fase activa pero aún no ha comenzado su reclutamiento tiene como objetivo principal determinar seguridad, dosis y eficacia parcial, para lo cual esperan incluir aproximadamente 40 pacientes mayores de 55 años con DMRE neovascular y serán asignados de manera aleatoria en 2 grupos de intervención para recibir AAV2-sFLT01 (dosis=1 x 10¹⁰), AAV2-sFLT01 (dosis=1 x 10¹¹) o al grupo control para recibir ranibizumab.

Ad(GV)PEDF.11D: Es un E1-, parcial E3-, eliminado-E4, adenovirus de serotipo 5 deficiente de replicación usado como vector de transferencia de genes.⁸ El transgén en este vector es el cADN para factor derivado del epitelio pigmentario humano (PEDF). PEDF es una de las más potentes proteínas antiangiogénicos conocidos que se encuentran en los seres humanos. Aunque Ad(GV)PEDF.11D es capaz de transducir muchos tipos de células somáticas, la barrera natural a otros tejidos creados por la retina limita la capacidad de Ad(GV)PEDF.11D a limitar su acción a los tejidos oculares. La administración intravítrea de Ad(GV)PEDF.11D proporciona un medio conveniente de la entrega de PEDF a las células pertinentes dentro del ojo que puedan dar lugar a una duración más prolongada del efecto en comparación a la administración de la proteína PEDF sola.⁸ Estudios pre clínicos en modelos murinos mostraron eficacia y seguridad. Se completó un estudio fase I con administración intravítrea de Ad(GV)PEDF.11D (NCT00109499) pero sus resultados no se han hecho públicos.

2. Fármacos en estudios pre-clínicos

Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF): El HGF es un plasminógeno derivado de un polipéptido multifuncional producido por células mesenquimales que tiene un efecto mitogénico y ha mostrado ser más eficaz en la estimulación de la neovascularización coroidea (NVC) que el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) o factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).⁹⁻¹³ Un estudio mostró que L2G7 un anti-HGF mAb, puede inhibir las actividades biológicas inducidas por HGF in vitro.¹⁴

Receptor anti-apoptótico 1 (DcR1): El receptor anti apoptótico 1 (DcR1) es capaz de estimular el factor $\kappa\beta$ el cual es fundamental para la activación de transcripción de genes los cuales antagonizan los mecanismos apoptóticos o promotores de la inflamación. El ligando inductor de apoptosis relacionado a TNF (TRAIL) actúa como agente antitumoral, induciendo las apoptosis en células cancerígenas.¹⁵ TRAIL es una citoquina la cual se puede unir con 4 receptores: Receptor de muerte 4 (DR4) y receptor de muerte 5 (DR5) ambos pro-apoptóticos pero también puede unirse a receptores anti-apoptóticos (DcRs) receptor de muerte 1 y 2 (DcR1 y DcR2).¹⁵ Al unirse a DcR4 y DcR5 el TRAIL puede inducir apoptosis a través de mecanismos caspasa-8 dependientes los cuales activan aún más las caspasas efectoras como la caspasa-3. DcR1 es una GPI-ancorada, miembro de los receptores de factor de necrosis tumoral (TNFR). DcR1 posee un dominio extracelular para la unión de TRAIL y un dominio transmembrana, pero no posee dominios para generar muerte celular, actuando como receptor señuelo al TRAIL para reducir la apoptosis.¹⁵ Los receptores señuelos luego de unirse al TRAIL inhiben la apoptosis producida por receptores pro apoptóticos DcR4 y 5 al secuestrar el TRAIL circulante.¹⁶

Análogos de MicroRNA-24: Los microRNA están emergiendo como moduladores esenciales del desarrollo y enfermedades vasculares. Sin embargo, el mecanismo de como los microRNA regulan los dinámicos citoesqueletos de actina en las células endoteliales y la neovascularización aún es desconocido. El citoesqueleto de actina es fundamental para la motilidad y división celular, ambos procesos son fundamentales para la angiogénesis. Un reciente estudio reportó que los microARN-24 regulan la dinámica

NUEVA
IMAGEN

Carmelub[®] Tears

Carboximetilcelulosa Sódica al 0,5%

Lubricante ocular de uso diario
que alivia rápidamente los
síntomas asociados al
síndrome del ojo seco.

SIN
Cloruro de
Benzalconio



Vision



Totalmente Confiable

de la actina en las células endoteliales a través de múltiples blancos (Pak4, Limk2 y Diaph1) que ocasionan “*downregulation*” en las señales de las proteínas tipo Rho.¹⁷ El reordenamiento de la actina lleva a la formación de estructuras protrusivas conocidas como lamelopodia y filopodias requeridas para la migración celular.¹⁸ Las proteínas Rho son una familia de pequeñas GTPasas que incluyen RhoA, Rac1 y Cdc42, éstas son maestras en la regulación del citoesqueleto de actina, regulando así un paso fundamental en la angiogénesis.^{19,20} En general se cree que: Cdc42 determina la polaridad celular y la formación de filopodias, Rac1 estimula la motilidad de la lamelopodia y RhoA estimula la generación y la fuerza de contracción.¹⁹⁻²¹ Las señales producidas por las proteínas Rho se han observado esenciales para la formación capilar in vitro y para la angiogénesis in vivo.^{19,21,22} Múltiples genes bajo la señalización de Rho, incluidos Pak4, Limk2 y DIAPH1, son blancos directos del microRNA-24.¹⁷ La regulación de LIMK2 o PAK4 por parte de los MicroARN-24 a su vez inhibió la angiogénesis, mientras que la sobreexpresión de LIMK2 y PAK4 por adenovirus rescató parcialmente los defectos y la angiogénesis.¹⁷

IL 18 recombinante: La IL-18 descrita anteriormente como factor inducido por Interferón γ (INF γ) pertenece estructuralmente a la familia de las IL-1.²³ Es producida por macrófagos activados tales como las células de Kupffer en hígado y otros macrófagos.²⁴ La biosíntesis de IL-18 es similar a la de IL-1, primero se sintetiza un precursor biológicamente inactivo (pro-IL-18), que carece de un péptido señal. Los pro-IL-1 y pro-IL-18 se escinden por la caspasa-1 transformándose en su forma activa.²³ La proteína NLRP3 actúa como un receptor para señales de peligro, como son el

ATP, cristales de ácido úrico, las estructuras de tipo amiloide y la disfunción mitocondrial.²⁵⁻²⁸ Éstas señales de peligro activan el inflamasoma NLRP3, el cual posee un dominio asociado a la apoptosis para el reclutamiento de Caspasas y pro Caspasa 1, resultando en la escisión de Pro-IL-1 β y pro-IL-18 en sus formas maduras proinflamatorias IL-1 β y IL-18.²⁹

La acumulación de drusas excesiva puede interrumpir a las células del epitelio pigmentado de la retina (EPR) adyacentes, que mueren posteriormente por necrosis,³⁰ ésta es capaz de activar el inflamasoma NLRP3.³¹ Se ha comprobado que las drusas aisladas en los ojos de donantes con DMRE pueden activar el inflamasoma NLRP3 y que la proteína modificadora de carboxietilpirrol (PEC) relacionada con el estrés oxidativo es encontrada comúnmente en las drusas,³²⁻³⁴ actuando también como molécula cebadora del inflamasoma.²⁹ El componente C1q del complemento también puede activar el inflamasoma NLRP3 de manera caspasa-1-dependiente y fagolisosomadependiente.²⁹

El NLRP3 ha demostrado regular la DMRE neovascular en modelos murinos.³⁴⁻³⁵ En ausencia de NLRP3 el desarrollo de la NVC fue exacerbada.²⁹ La activación de la inflamasoma NLRP3 por drusas sugiere que puede existir un equilibrio mediante el cual una cierta cantidad focal de drusas se tolera debido a su capacidad para inducir IL-18, que, a su vez, puede actuar como un efector anti-angiogénico, manteniendo la homeostasis de la coroides en un microambiente inflamatorio.³² La presencia NLRP3 genera incremento en las concentraciones de IL-18 la cual posee un *downregulation* sobre VEGF.²⁹

Se ha evaluado la administración de IL-18 recombinante en roedores como terapia

concomitante a anti VEGF tanto por vía sistémica como por vía intravítrea.³⁶ Dada la potente actividad biológica y seguridad de la IL-18 a dosis de 10 a 50 ng/ml, se comparó la administración intravítrea de IL-18 a la terapia anti-VEGF.³⁶ DMS1529 (un anticuerpo específico del dominio de VEGF murino neutralizantes, que se considera un análogo murino de ranibizumab y bevacizumab), se inyectó por vía intravítrea después de la NVC inducida por láser, el DMS1529 disminuye la NVC significativamente. Inyectar DMS1529 junto con IL-18 fue aún más efectivo para atenuar el desarrollo de la NVC que la terapia anti-VEGF solamente. La administración subcutánea de IL-18 recombinante a dosis de 1.0mg/kg en combinación con DMS1529 disminuyó significativamente la NVC en roedores sin efectos adversos siendo más eficaz que DMS1529 solo y disminuyendo la dosis administrada intraocularmente en comparación con la anterior.³⁶

Antiangiogénicos tópicos Inhibidores del SRPK1 (SRPIN 340, MVRL09 Y SPHINX)
La SRPK1 es una proteínaquinasa que fosforila específicamente proteínas que contienen un dominio rico en serina-arginina. Sus sustratos incluyen una familia de proteínas SR las cuales son reguladores de mRNA. Éstas proteínas SR contienen 1 o 2 dominios de unión al mRNA en el extremo N-terminal y un dominio con repetidos residuos de serina-arginina en el extremo C terminal. La SRPK1 se une en éste dominio y fosforila los residuos de serina. La fosforilación es direccional, el SRPK1 se une e inicia en los residuos de Ser²²¹- Ser²²⁵ para finalizar en el extremo N-terminal. La SRPK1 se localiza tanto en el citoplasma como en el núcleo y trasloca en estos compartimientos bajo ciertas condiciones pudiendo fósforilar a proteínas SR en ambos sitios.³⁷

LA SRSF1 una proteína perteneciente a la familia de las proteínas SR y juega un papel importante en la definición del sitio de unión del VEGF transformándolo en la isoforma pro-angiogénica (VEGF₁₆₅), para esto la SRSF1 debe ser fósforilada por SRPK1, siendo éste una probable vía para el desarrollo de nuevo fármacos contra DMRE neovascular.³⁷

Se han usado 3 pequeñas moléculas inhibidoras del SRPK1 en modelos murinos (SRPIN 340, MVRL09 Y SPHINX) todas contienen un grupo fenil trifluorometil pero con diferentes grupos primarios (ver figura 1) la unión del anillo fenil reduce la expresión de VEGF₁₆₅ y la neovascularización coroidea (NVC) en vivo.³⁸

mARN antisentido: Aganirsén (GS-101): Es un mARN antisentido sustrato del receptor de insulina 1 (IRS-1) acerca del cual se ha reportado tener un papel importante en la angiogénesis retiniana. Aganirsén previene lesiones asociadas a la neovascularización corneal en ratas y permite la regresión de la neovascularización de la córnea proliferativa en pacientes. Se ha demostrado que una dosis única tópica de S-Aganirsén disuelta en solución salina podría difundir hacia la cámara posterior de ojos de conejos. También se conoce la seguridad, tolerabilidad y biodisponibilidad de gotas oftálmicas de Aganirsén en voluntarios sanos.³⁹

Discusión

Aunque se considera que HGF y VEGF operan en paralelo y posiblemente pueden tener acciones sinérgicas durante la angiogénesis, el HGF puede funcionar como un inhibidor de VEGF bajo ciertas circunstancias.^{40,41} Hu et al. mostraron en el modelo de NVC

inducido por láser que había producido un aumento solo del 25 % en la expresión de VEGF manteniéndose en una meseta de bajo nivel y que la neovascularización correspondió principalmente a HGF y FGF.⁴² Estos resultados moleculares e inmunocitoquímicos sugieren que el FGF y HGF pueden ser importantes como reguladores iniciales de la neovascularización en el modelo de NVC y podrían ser blancos para futuros fármacos en la DMRE neovascular.

Con respecto a DcR1, los estudios han demostrado concentraciones séricas menores de DcR1 en pacientes con DMRE en comparación con grupo control ($p=0.0001$), pero esta diferencia no ha sido significativa entre pacientes con DMRE atrófica y DMRE neovascular ($p=0.093$).¹⁵ La asociación entre bajos niveles de DcR1 y DMRE se evaluó como variable independiente, encontrándose asociación entre severidad de DMRE y niveles de DcR1 ($\chi^2=5.982$, $p=0.014$). Por lo que se podría considerar los niveles de DcR1 como una variable independiente en la DMRE.¹⁵ Un estudio más grande es imprescindible debido a que el DcR1 podría potencialmente complementar las actuales estrategias de tratamiento siendo eficaz como neuroprotección en la DMRE.

La administración subretiniana de un análogo de microRNA-24 reprime NVC inducida por láser *in vivo*.¹⁷ Estos hallazgos revelan un nuevo mecanismo mediante el cual los microRNA-24 regulan la dinámica del citoesqueleto de actina y la angiogénesis y sugieren los análogos de MicroRNA-24 como un nuevo agente terapéutico potencial para la lucha contra la angiogénesis aberrante través de la regulación del citoesqueleto de actina.

El EPR es un epitelio sensible, estudios anteriores reportaron daño al EPR por parte

de la IL-18.⁴³ Aunque las células EPR son biológicamente sensibles al IL-18, ésta no causa muerte celular cuando se administra exógenamente en su forma madura.³⁶ El daño en las células del EPR tras la administración intravítrea de IL-18 se debe a una respuesta provocada por dosificación o concentración supra-fisiológica ($\geq 1\mu\text{g/ml}$) de la IL-18, ocasionando un exceso de infiltrado de células inmunes, lo que resulta en el daño local grave en el tejido de la retina.³⁶ Los estudios presentados anteriormente aportan datos de IL-18 como un regulador clave de la neovascularización patológica e indica que pudiese representar una nueva estrategia terapéutica como terapia adjunta en DMRE neovascular.

La administración de SRPIN340 y SPHINX redujo la fosforilación de las proteínas SR y fueron capaces de reducir el área de lesión neovascular en ratones con NVC inducida por láser mientras que MVRL09 no fue capaz de producir éste efecto.³⁸ Así, los inhibidores del SRPK1 en modelos murinos pueden prevenir CNV por reducción de la expresión del VEGF pro-angiogénico ya sea mediante: 1) la prevención de la utilización de los extremos proximal del sitio de empalme, lo que resulta en la reducción de ARN maduro, o 2) a través alteraciones indirectas en la regulación transcripcional o traslacional. Datos de estudios previos sugieren que la Inhibición SRPK por SRPIN340 o SPHINX tiene la potencia para lograr reducciones similares en la NVC al tratamiento con ranibizumab, pero en dosis más bajas.³⁸ Uno de los inconvenientes del tratamiento con ranibizumab es la necesidad de inyecciones intraoculares mensuales. La administración tópica dos veces al día de SRPIN340 o SPHINX suprime significativamente la CNV en ratones.³⁸ En el análisis farmacocinético se detectó en el ojo

3,5 % de la dosis de SRPIN340 tópica aplicada después de 1 hora (reflejando estimaciones anteriores de mala biodisponibilidad, sólo el 5% de un fármaco aplicado tópicamente logrará penetrar en el ojo) manteniéndose durante 48 horas después de una sola administración tópica, sin detectarse sistémicamente. A pesar de que sólo aproximadamente el 5% (o menos) de la dosis penetra en el ojo, la dosis requerida para conseguir 50% de inhibición de la NVC usando SRPIN340 tópica es favorable comparado con otras terapias tópicas; se muestra SRPIN340 como el primer compuesto de terapia tópica que disminuye la expresión de VEGF pro-angiogénico.³⁸ El SRPIN340 ha demostrado supresión significativa de NVC cuando se administró diariamente como gotas oculares, sin efectos adversos observados en la córnea.³⁷ El SRPIN340 ha mostrado eficacia y seguridad en estudios pre-clínicos en modelos murinos y podría ser un potencial fármaco de uso tópico para DMRE neovascular.

Los resultados de aganirsen en estudios preclínicos ponen de relieve el potencial del mismo como un tratamiento alternativo para la neovascularización anormal y potencialmente para múltiples indicaciones oculares como DMRE neovascular.³⁹ Diversos autores lo proponen como el primer agente antiangiogénico tópico eficaz en modelos DMRE neovascular. Sin embargo aún no se han realizados estudios clínicos para demostrar su eficacia y seguridad en DMRE neovascular, a pesar de recientemente finalizó un estudio fase 3 que demuestra su tolerancia y eficacia,

pero en la inhibición neovascularización corneal en pacientes con queratitis.

Conclusiones

La terapia génica vinculada a la DMRE neovascular muestra un avance científico importante en el campo de la farmacología ocular pudiendo proporcionar eficacia tras una sola inyección de un vector que puede expresar continuamente una proteína elegida, el Adeno virus - asociados 2(AAV2) es el primero de este grupo que comienza a vincularse con estudios de eficacia parcial, el resto aún se encuentran en estudios de seguridad y tolerabilidad. Existen estudios pre-clínicos que sugieren nuevos y diversos targets farmacológicos para la degeneración macular relacionada a la edad mostrando un perfil de eficacia significativo; destacando el factor de crecimiento de hepatocitos, el cual muestra ser más eficaz que el mismo factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) para la neovascularización coroidea (NVC), la IL-18 que una vez mostró ser citotóxica para las células del epitelio pigmentario de la retina podría convertirse en una opción de terapia concomitante para los existentes anti-VEGF una vez determinada las dosis terapéuticas, el SRPIN340 como un compuesto de terapia tópica que disminuye la expresión de VEGF y el aganirsen (diseñado para otra indicación) pudiese ser el primer agente antiangiogénico tópico eficaz en modelos DMRE neovascular.

Figuras

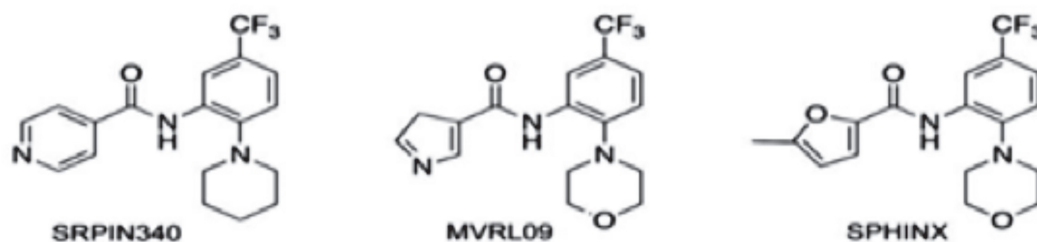


Figura 1. Estructura molecular SRPIN340, MVRL09 y SPHINX.

Tablas

Grupo farmacéutico al que pertenece	Fármaco	Sponsor	Fase de estudio	Número de Estudio clínico
Terapia Génica	RertinoStat®	Oxford BioMedica	Fase I (activa)	NCT01301443
			Fase I (activa)	NCT01678872
	AAV2-sFLT01	Genzyme -Sanofi	Fase I (activa)	NCT01024998
			Fase I/II (activa)	NCT01494805
	AdGVPEDF.11D	GenVec	Fase I (finalizado)	NCT00109499

Tabla 1. Resumen de la situación actual de los fármacos en estudios clínicos.

Bibliografía

- Reynolds AL, Kent D, Kennedy BN. Retinal Degenerative Diseases. Ash JD, Grimm C, Hollyfield JG, Anderson RE, LaVail MM, Bowes Rickman C, editors. New York, NY: Springer New York; 2014;801:797–804.
- Binley K, Widdowson PS, Kelleher M, de Belin J, Loader J, Ferrige G, et al. Safety and biodistribution of an equine infectious anemia virus-based gene therapy, RetinoStat®, for age-related macular degeneration. Hum Gene Ther 2012;23:980–91.
- Philippidis A. Gene therapy briefs. Hum Gene Ther 2014;25:12–6.
- Van Vliet KM, Blouin V, Brument N, Agbandje-McKenna M, Snyder RO. The role of the adenoassociated virus capsid in gene transfer. Methods Mol Biol. 2008;437:51–91.
- Mueller C, Flotte TR. Clinical gene therapy using recombinant adeno-associated virus vectors. Gene Ther. 2008;15:858–63.
- MacLachlan TK, Lukason M, Collins M, Munger R, Isenberger E, Rogers C, et al. Preclinical safety evaluation of AAV2-sFLT01- a gene therapy for age-related macular degeneration. Mol Ther; 2011;19:326–34.
- Pechan P, Rubin H, Lukason M, Ardinger J, Dufresne E, Hauswirth WW, et al. Novel anti-

- VEGF chimeric molecules delivered by AAV vectors for inhibition of retinal neovascularization. *Gene Therapy* 2009;1:10–6.
8. Rasmussen H, Chu KW, Campochiaro P, Gehlbach PL, Haller JA, Handa JT, et al. Clinical protocol. An open-label, phase I, single administration, dose-escalation study of ADGVPEDF.11D (ADPEDF) in neovascular age-related macular degeneration (AMD). *Hum Gene Ther* 2001;12:2029–32.
 9. Nakamura T, Nawa K, Ichihara A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;122:1450–9.
 10. Russell WE, McGowan JA, Bucher NL. Partial characterization of a hepatocyte growth factor from rat platelets. *J Cell Physiol* 1984;119:183–92.
 11. Bottaro DP, Rubin JS, Faletto DL, Chan AM, Kmiecik TE, Vande Woude GF, et al. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product. *Science* 1991;251:802–4.
 12. Tamagnone L, Comoglio PM. Control of invasive growth by hepatocyte growth factor (HGF) and related scatter factors. *Cytokine and Growth Factor Reviews* 1997. p. 129–42.
 13. Nakamura Y, Morishita R, Higaki J, et al. Hepatocyte growth factor is a novel member of the endothelium-specific growth factors: additive stimulatory effect of hepatocyte growth factor with basic fibroblast growth factor but not with vascular endothelial growth factor. *J Hypertens* 1996;14:1067e72.
 14. Cao B, Su Y, Oskarsson M, et al. Neutralizing monoclonal antibodies to hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) display antitumor activity in animal models. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:7443e8.
 15. Anand A, Sharma NK, Singh R, Gupta A, Prabhakar S, Jindal N, et al. Does DcR1 (TNF-related apoptosis-inducing-ligand Receptor 3) have any role in human AMD pathogenesis? *Sci Rep* 2014;4:4114.
 16. Wu X, Lippman SM. An intermittent approach for cancer chemoprevention. *Nat Rev Cancer* 2011;11:879–85.
 17. Zhou Q, Anderson C, Zhang H, Li X, Inglis F, Jayagopal A, et al. Repression of choroidal neovascularization through actin cytoskeleton pathways by microRNA-24. *Mol Ther* 2014;22:378–89.
 18. Pollard TD, Borisy GG. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell* 2003;112:453–65.
 19. Hall a. Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science* 1998;279:509–14.
 20. Fryer BH, Field J. Rho, Rac, Pak and angiogenesis: old roles and newly identified responsibilities in endothelial cells. *Cancer Lett* 2005;229:13–23.
 21. Park H-J. 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitors Interfere With Angiogenesis by Inhibiting the Geranylgeranylation of RhoA. *Circ Res* 2002;91:143–50.
 22. Hoang M V, Whelan MC, Senger DR. Rho activity critically and selectively regulates endothelial cell organization during angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:1874–9.
 23. Liu B, Novick D, Kim SH, Rubinstein M. Production of a biologically active human interleukin 18 requires its prior synthesis as PRO-IL-18. *Cytokine* 2000;12:1519–25.
 24. Ushio S, Okura T, Hattori K, Nukada Y, Akita K, Tanabe F, et al. Cloning of the cDNA for Human IFN- γ -Inducing Factor, Expression in E. Coli. *J Immunol* 1996;156:4274–9.
 25. Halle A, Hornung V, Petzold GC, Stewart CR, Monks BG, Reinheckel T, et al. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta. *Nat Immunol* 2008;9:857–65.
 26. Zhou R, Yazdi AS, Menu P, Tschopp J. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature* 2011;469:221–5.
 27. Mariathasan S, Weiss DS, Newton K, McBride J, O'Rourke K, Roose-Girma M, et al. Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature* 2006;440:228–32.
 28. Martinon F, Pétrilli V, Mayor A, Tardivel A, Tschopp J. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 2006;440:237–41.
 29. Doyle SL, Campbell M, Ozaki E, Salomon RG, Mori A, Kenna PF, et al. NLRP3 has a protective role in age-related macular degeneration through the induction of IL-18 by drusen components. *Nat Med* 2012;18:791–8.
 30. Gao H, Hollyfield JG. Aging of the human retina. Differential loss of neurons and retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:1–17.
 31. Iyer SS, Pulsikens WP, Sadler JJ, Butter LM, Teske GJ, Ulland TK, et al. Necrotic cells trigger a sterile inflammatory response through the Nlrp3 inflammasome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:2088–93.
 32. Hollyfield JG, Bonilha VL, Rayborn ME, Yang X,

- Shadrach KG, Lu L, et al. Oxidative damage induced inflammation initiates age-related macular degeneration. *Nat Med* 2008;14:194–8.
33. Gu X, Meer SG, Miyagi M, Rayborn ME, Hollyfield JG, Crabb JW, et al. Carboxyethylpyrrole protein adducts and autoantibodies, biomarkers for age-related macular degeneration. *J Biol Chem* 2003;278:42027–35.
34. Campbell M, Humphries MM, Kiang A-S, Nguyen ATH, Gobbo OL, Tam LCS, et al. Systemic low-molecular weight drug delivery to pre-selected neuronal regions. *EMBO Mol Med* 2011;3:235–45.
35. Sakurai E. Macrophage Depletion Inhibits Experimental Choroidal Neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3578–85.
36. Doyle SL, Ozaki E, Brennan K, Humphries MM, Mulfaul K, Keaney J, et al. IL-18 attenuates experimental choroidal neovascularization as a potential therapy for wet age-related macular degeneration. *Sci Transl Med* 2014 ;6:230ra44.
37. Oltean S, Gammons M, Hulse R, HDMREollah-Zadeh M, Mavrou A, Donaldson L, et al. SRPK1 inhibition in vivo: modulation of VEGF splicing and potential treatment for multiple diseases. *Biochem Soc Trans* 2012;40(4):831–5.
38. Gammons M V, Fedorov O, Ivison D, Du C, Clark T, Hopkins C, et al. Topical antiangiogenic SRPK1 inhibitors reduce choroidal neovascularization in rodent models of exudative DMRE. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:6052–62.
39. Cloutier F, Lawrence M, Goody R, Lamoureux S, Al-Mahmood S, Colin S, et al. Antiangiogenic activity of aganirsen in nonhuman primate and rodent models of retinal neovascular disease after topical administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:1195–203.
40. Gerritsen ME. HGF and VEGF: a dynamic duo. *Circ Res* 2005;96:272e3
41. Nishimura M, Ikeda T, Ushiyama M, et al. Increased vitreous concentrations of human hepatocyte growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:659e62.
42. Hu W, Criswell MH, Fong SL, et al. Differences in the temporal expression of regulatory growth factors during choroidal neovascular development. *Exp Eye Res* 2009;88:79e91
43. Zhou Q, Anderson C, Zhang H, Li X, Inglis F, Jayagopal A, et al. Repression of choroidal neovascularization through actin cytoskeleton pathways by microRNA-24. *Mol Ther* 2014;22:378–89.