

Vascular endothelial growth factor (VEGF) gene therapy using a nonviral gene delivery system improves erectile function in a diabetic rat model

Int J Impot Res 2008;20:307-314; DOI: 10.1038/ijir.2008.1

JE DALL'ERA (1), RB MEACHAM (1), JN MILLS (1), S KOUL (1), SN CARLSEN (1), JB MYERS (1) AND HK KOUL (1,2)

(1) Signal Transduction and Molecular Urology Laboratory, Program in Urosciences, Division of Urology, Department of Surgery, School of Medicine, Denver, Colorado, USA and (2) University of Colorado Comprehensive Cancer Center, University of Colorado at Denver and Health Sciences Center, Denver, Colorado, USA

Correspondence to: Dr HK Koul, Department of Surgery-Division of Urology, University of Colorado Health Sciences Center, 4200 East Ninth Avenue, Box C319, Denver, CO 80262, USA. E-mail: Hari.koul@uchsc.edu

Erectile dysfunction (ED) is a cause of decreased quality of life in more than 70% of diabetic men. Vascular endothelial growth factor (VEGF) has shown to improve overall endothelial and smooth muscle cell dysfunction in models of ED. We describe a novel technique for nonviral, in vivo gene transfection of VEGF in the rat corpus cavernosum. Diabetic rats were transfected with DNA encoding a fusion VEGF/green fluorescent protein (GFP) complex and fluorescence microscopy was used to monitor the expression of VEGF-GFP fusion protein. Western blot and PCR analyses confirmed the expression of the GFP-VEGF fusion protein and mRNA. Functional studies using cavernous nerve stimulation revealed maximal intracavernous pressures (ICPs) of 63.1mmHg, and 30.7mmHg in the normal and diabetic control groups, respectively, and 47.4mmHg in VEGF-GFP transfected diabetic group. Immunohistochemical analysis of the cavernosal tissue from transfected rats showed increased smooth muscle content compared with the diabetic control group. We show for the first time in our animal model that expression of the transfected VEGF in cavernosal tissue leads to an overall improvement of maximal ICP and smooth muscle content. On the basis of these results, it is tempting to speculate that our nonviral vector system offers an excellent system for gene delivery into cavernosal tissue, and that VEGF gene therapy using this system could be useful in improving erectile function in diabetic men.

La terapia genica con il fattore di crescita vascolare endoteliale tramite un sistema non virale di trasferimento del gene migliora la funzione erettile nel modello del ratto diabetico

La disfunzione erettile (ED) è una causa della diminuzione della qualità di vita in più del 70% degli uomini diabetici. È stato dimostrato che il fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF) migliora complessivamente la disfunzione delle cellule endoteliali e muscolari lisce nei modelli di ED. Descriviamo una nuova tecnica di transfezione genica non virale in vivo di VEGF nel corpo cavernoso del ratto. Sono stati transfettati dei ratti diabetici con il DNA codificante per il complesso di fusione VEGF/proteina fluorescente verde (GFP) e fu impiegata la microscopia a fluorescenza per monitorare l'espressione della proteina di fusione VEGF-GFP. Le analisi con Western Blot e PCR confermarono l'espressione della proteina di fusione VEGF-GFP e del m-RNA. Gli studi funzionali tramite la stimolazione del nervo cavernoso dimostrarono che la massima pressione intracavernosa (ICPs) fu di 63.1 mmHg a di 30.7 mmHg rispettivamente nel gruppo di controllo normale e in quello diabetico e di 47.4 mmHg nel gruppo diabetico transfettato con la VEGF-GFP. L'analisi immunostochimica del tessuto cavernoso dei ratti transfettati dimostrò l'incremento del contenuto di muscolo liscio rispetto al gruppo diabetico di controllo. Abbiamo dimostrato per la prima volta nel nostro modello animale che l'espressione del VEGF transfettato nel tessuto cavernoso induce un complessivo miglioramento della ICP massima e del contenuto di muscolo liscio. Sulla base di questi risultati, è interessante sostenere che il nostro sistema di vettore non virale offre un eccellente mezzo per il trasferimento genico nel corpo cavernoso e che la terapia genica VEGF che impiega tale sistema potrebbe essere utile nel migliorare la funzione erettile nell'uomo diabetico.

Il commento – Un altro interessante aspetto delle possibilità di terapia del deficit erettile determinato dal danno alle cellule della rete vascolare (le cellule endoteliali e le cellule muscolari lisce) dei corpi cavernosi. Lo studio è ancora in fase sperimentale e solo in prospettiva potrà essere applicato all'uomo, ma i dati che emergono sono interessanti, soprattutto per gli uomini in cui il danno della rete vascolare cavernosa è legato alla consistente disfunzione delle cellule endoteliali e muscolari lisce che la patologia diabetica inesorabilmente, anche quando il diabete sia sotto equilibrato controllo, produce. Tralasciando i complessi elementi biologici in gioco (nel caso il lavoro integrale è disponibile con accesso libero nel sito della rivista), la tecnica presentata, per trasferire il gene necessario (il VEGF) alla ripresa funzionale delle cellule della rete vascolare cavernosa, è veramente interessante ed efficace nonché in grado di ridurre al minimo se non annullare le problematiche che sono emerse in questi anni con l'impiego di altre tecniche. È infatti ben accertato che l'impiego di virus innocui è sempre fonte di rischio per il paziente e non è sempre così efficiente, altrettanto non sempre efficiente è stato l'impiego di altre molecole atte a trasferire il DNA. La

molecola qui impiegata e ormai ben disponibile sul mercato dell'industria biologica, la polietilenimina (PEI) o JetPEI come nome commerciale, si è dimostrata un eccellente veicolo per il trasferimento e la relativa stabilizzazione del DNA (il gene VEGF) trasferito: le osservazioni per ora sono state limitate a 3 settimane e con piccole dosi di DNA, ma ci si può attendere un ragionevole e utile maggior tempo di efficacia con il trasferimento di dosi di DNA maggiore o semplicemente verificando il tempo reale di persistenza efficace del gene trasferito. Anche in questo tipo di percorso non bisogna farsi prendere da facili entusiasmi, ma certo la possibilità di agire sulla reale alterazione della disfunzione erettile di natura vascolare locale (la procedura diagnostica corretta è sempre fondamentale), soprattutto quando essa dipende da una patologia maggiore controllabile ma che nel tempo dà luogo in ogni caso ad alterazione funzionale, è veramente interessante e importante, anche in ragione della semplicità del trasferimento genico in gioco e della persistenza che è possibile ottenere con la tecnica presentata. In questo lavoro non è stato valutato l'effetto del trasferimento genico del VEGF nelle strutture vascolari confinanti con la rete vascolare cavernosa e in particolare quella del distretto pelvico-prostatico, la cui disfunzione spesso (quasi sempre nei soggetti non diabetici) è connessa alla disfunzione erettile: gli ulteriori studi non dovranno tralasciare questo importante aspetto poiché è possibile che il trasferimento genico di VEGF tramite l'iniezione nei corpi cavernosi, possa giocare un ruolo utile e positivo anche per la disfunzione di tale componente della rete vascolare. Occorrerà ancora del tempo e molta attenzione, ma la strada è aperta e bisognerà imparare a percorrerla correttamente.