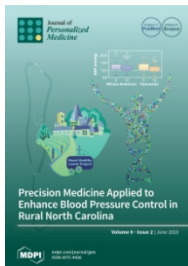


Terapias Avanzadas para el Tratamiento de las Enfermedades Genéticas

La distrofia muscular de Duchenne es una enfermedad genética que provoca debilidad muscular progresiva debido a la falta de distrofina, una proteína muscular. Este trabajo revisó las terapias utilizadas para restaurar dicha proteína.



Fuente: Journal of Personalized Medicine 9(1):1-14

Título original: Restoring Dystrophin Expression in Duchenne Muscular Dystrophy: Current Status of Therapeutic Approaches

Autores: Shimizu-Motohashi Y, Komaki H, Aoki Y y colaboradores

Institución: National Center of Neurology and Psychiatry, Tokio, Japón

Introducción

La distrofia muscular de Duchenne (DMD) es un trastorno muscular provocado por la ausencia o la reducción de la distrofina, una proteína del músculo esquelético codificada por el gen *DMD*, localizado en el cromosoma X. Esta proteína une los sarcómeros a la matriz extracelular para proteger al sarcolema del daño que se produce durante las contracciones. El 80% de las mutaciones que produce esta enfermedad son de gran tamaño e involucran al menos un exón, en tanto que el 20% restante son mutaciones y afectan segmentos menores que un exón. Además, el 86% de estas mutaciones de gran tamaño son deleciones y el 14%, duplicaciones.

Los pacientes con DMD presentan debilidad muscular progresiva que, eventualmente, afecta a la función respiratoria y cardíaca. Los síntomas varían desde formas graves hasta más leves, denominadas distrofia muscular de Becker. La gravedad de la manifestación clínica se debe al marco de lectura de la mutación del gen: en la DMD, la mutación provoca la pérdida del marco de lectura que causa la pérdida de distrofina, en tanto que en las formas más leves la mutación está dentro del marco y produce distrofina funcional más corta. Sin embargo, esta hipótesis no explica la gravedad de todos los casos.

El presente trabajo revisó el estado actual de las terapias que apuntan a la restauración de la expresión de la distrofina en los pacientes con DMD.

Terapia de ultralectura

Este tratamiento puede aplicarse en pacientes que tienen mutaciones terminadoras, aproximadamente el 10% de los casos con DMD. Estas mutaciones provocan una terminación prematura de la distrofina en el ARN mensajero, lo que genera una proteína más corta y no funcional. Además, el ARN puede ser degradado.

Los aminoglucósidos pueden leer por medio de los codones de terminación de la traducción prematuros. En animales con una mutación terminadora en el exón 23 del gen *DMD* se restauró la expresión de la distrofina al administrar gentamicina. Aunque esta mejora pudo replicarse en ensayos clínicos con pacientes con DMD, los efectos adversos de la droga desalentaron su empleo en forma crónica.

Por su parte, el ataluren puede promover la supresión terminadora, con menos efectos adversos. En un ensayo en fase II se verificó un resultado favorable, aunque no significativo, en la prueba de caminata de 6 minutos (PC6M) en los pacientes tratados con esta droga; además, se incrementó la expresión de distrofina. En la fase III no se halló una diferencia significativa, aunque sí se observó en pacientes tratados a largo plazo.

El uso de ataluren fue rechazado en Europa, aunque una revisión reciente halló que es eficaz para disminuir la progresión de la enfermedad, por lo que obtuvo una autorización condicional para emplearla en pacientes mayores de 2 años y con mutaciones terminadoras en el gen *DMD*.

Salto de exones

El salto de exones es un enfoque terapéutico para pacientes con DMD que se basa en la corrección del marco de lectura mediante el salto de un exón con un oligonucleótido no codificante (ONC) prediseñado. Esto restaura el marco de lectura al modular el proceso de corte y empalme (*splicing*) del ARN mensajero para obtener una distrofina más corta, pero funcional, lo que revierte la DMD a un fenotipo menos grave. El salto de exones puede aplicarse en el 80% de las mutaciones del gen *DMD*. Las mutaciones tienden a acumularse entre los exones 45 y 55 de este gen, en tanto que el salto del exón 51 puede aplicarse en el 14% de los pacientes.

El morfolino de fosforodiamidato (MFM) y el 2'-O-metil fosforotioato (2'OMF) son oligonucleótidos con alta estabilidad, eficacia y baja toxicidad. Actualmente, se crearon el eteplirsén, con la tecnología MFM, y el drisapersén, con 2'OMF. En un ensayo clínico, aleatorizado y controlado con placebo de eteplirsén se demostró la seguridad, pero no la eficacia; su uso se aprobó de forma condicional, pero con la exigencia de ensayos posteriores a la comercialización que finalizarán en 2021. Los ensayos clínicos realizados con drisapersén demostraron que el fármaco no es seguro ni eficaz, aunque en metanálisis posteriores se halló una mejora en la PC6M. Con el fin de mejorar su entrada al medio intracelular se han diseñado péptidos asociados con MFM (PMFM), que son más estables en la sangre y se entregan de forma más eficaz a las células. Sin embargo, dada la naturaleza catiónica del péptido, es importante considerar los efectos adversos. Los animales que recibieron dosis altas de PMFM tuvieron letargo, pérdida de peso y toxicidad renal.

También se diseñaron ONC estereoisómeros químicamente puros y ONC conjugados con ácidos nucleicos; estos compuestos están en etapa de evaluación clínica.

Terapia génica mediada por vectores

El reemplazo de genes defectuosos por genes sanos es un enfoque terapéutico de interés. El gen *DMD* y su ADN complementario tienen gran tamaño y los órganos afectados por la DMD se distribuyen en todo el cuerpo. Dado que existen pacientes con un fenotipo leve y deleciones de gran tamaño, la entrega de dominios específicos de la distrofina parece una estrategia eficaz. Se halló que el dominio N-terminal de la distrofina es importante para su función.

Los virus adenovirus asociados (AVA) son vectores en estado avanzado de elaboración. Sus ventajas principales residen en la baja inmunogenicidad, la replicación defectuosa, la expresión transgénica a largo plazo y la falta de patogenicidad. Pueden contener hasta 5 kilobases y se ha demostrado que son capaces de entregar microdistrofina y clones funcionales de ADN complementario de forma eficaz en modelos animales en los que mejoró la enfermedad muscular y cardíaca.

Las primeras terapias de microdistrofina mediada por AVA se iniciaron en 2006 y se administraron en bíceps de 6 pacientes de 5 a 11 años. Las biopsias musculares se realizaron a los 43 o 90 días de aplicada la inyección. Se encontró que 2 pacientes tuvieron una expresión limitada de la proteína, mientras que en los 4 restantes esta no se pudo detectar. Sin embargo, en 2 de estos 4 pacientes se observaron respuestas T a los epítopes de la distrofina, lo que indicó la expresión del transgén. Este resultado desfavorable sugirió que existe una respuesta inmune a la terapia, lo que llevó a la creación de una vacuna con plásmidos de microdistrofina que ha demostrado resultados favorables en modelos animales. En la actualidad hay 3 estudios clínicos en proceso con esta estrategia.

Terapias celulares

Este tratamiento involucra el empleo de células capaces de producir distrofina funcional en pacientes con DMD, que pueden ser células de donantes sanos o células autólogas modificadas genéticamente. Las primeras están libres de mutaciones, pero tienen riesgo de reacciones inmunes, mientras que las segundas no parecen contar con este problema.

Numerosos tipos celulares pueden emplearse, aunque en la actualidad los más investigados son las células miogénicas, las células madre CD133+ y los mesoangioblastos embrionarios. Las células miogénicas, al ser trasplantadas en la lámina basal, pueden generar fibras musculares; en la actualidad, se está evaluando la inyección intramuscular de estas células con resultados positivos sobre la expresión de distrofina, aunque no se pudo demostrar una mejora funcional. Las células madre CD133+ pueden diferenciarse de varios tipos celulares en un entorno adecuado. Se demostró que su implante en un modelo murino con DMD contribuyó a la regeneración muscular. Actualmente, están en evaluación clínica. Por último, los mesoangioblastos son células multipotentes que originan el mesoderma embrionario y pueden diferenciarse y dar origen a células musculares. La administración intraarterial de estas células en pacientes con DMD demostró ser segura, aunque 1 de 5 pacientes evaluados presentó un accidente cerebrovascular.

Desafíos y limitaciones de las terapias restauradoras de la distrofina

Existen numerosos asuntos que impiden la investigación en DMD. Primero, la rareza de esta enfermedad, motivo por el cual la cantidad de pacientes incorporados en los

estudios es muy pequeña; esto limita la potencia estadística de estos ensayos. Tampoco existen trabajos que reflejen los cambios en la progresión de la enfermedad. Segundo, es necesario mejorar ciertos problemas preclínicos, como la mejora en la captación de los ONC en los tejidos objetivo. En el caso de la terapia génica mediada por AVA, es necesario minimizar el riesgo inmunológico y aumentar la eficiencia de la microdistrofina.

Las limitaciones de la terapia génica incluyen la cantidad de células que pueden ser administradas, su baja tasa de supervivencia y la migración y la formación de tumores.

Conclusión

En la actualidad, solo las terapias de salto de exones y de ultralectura fueron aprobadas de forma condicional. La terapia mediada por vectores está a la espera de su aprobación, dado que parece útil en los pacientes que no se benefician con los dos primeros tratamientos. Los efectos clínicos de la terapia mediada por vectores parecen sutiles y difícilmente detectables en los plazos usuales de los ensayos clínicos. Estos estudios deben ser optimizados para evaluar la eficacia de la droga. Además, el análisis de los datos de los pacientes puede proveer información respecto de la eficacia real de las drogas innovadoras como mejora en la supervivencia, que puede evaluarse después de un tiempo largo de empleo.