



Conferencia Internacional en Bruselas, Bélgica, 17-19 de Noviembre de 2009.

## **Derribando las barreras**

en medicina traslacional para enfermedades neuromusculares hereditarias.

En nombre de TREAT-NMD y los NIH, quienes organizaron esta reunión, yo, **Günter Scheuerbrandt**, un bioquímico de Alemania, he escrito este informe para todos los jóvenes y personas mayores con enfermedades neuromusculares, y para sus familias y cuidadores. Contiene los resúmenes de las 27 presentaciones y de algunos de los debates entre ellas. He tratado de escribir este informe de una manera que le permitirá entender lo que fue presentado y discutido.

Pero yo tenía que mantener este texto corto, así que no podía explicar todos los detalles científicos. Así, si quiere realmente entender los diferentes enfoques de investigación para una terapia de al menos una de las enfermedades, la distrofia muscular Duchenne, usted debe leer mis informes de investigación, que puede ver en mis páginas de internet y se pueden descargar desde allí como archivos pdf: [www.duchenne-information.eu](http://www.duchenne-information.eu) en Inglés, Español y Alemán.

Como en mis otros informes, he escrito los nombres de los científicos al principio de los resúmenes sin sus títulos

académicos, muchos de ellos son profesores y casi todos son médicos o postgraduados.

Los presidentes de esta conferencia fueron **Kate Bushby** de la organización europea TREAT-NMD en Newcastle upon Tyne en el Reino Unido, y **John Porter** de los Institutos Nacionales de Salud de EUA, NIH, en Bethesda cerca de Washington DC en los EUA. Alrededor de 350 personas de 26 países, expertos en investigación y clínica y representantes de la *comunidad neuromuscular* asistieron al encuentro para discutir las cuestiones clave que deben abordarse y los problemas que necesitan ser resueltos si nuevas terapias y tratamientos prometedores deben ser rápidamente *traducidos a la clínica*, es decir, hacerlos disponibles lo más rápido posible para usted, los pacientes, en cualquier parte del mundo en que viva.

El programa completo, junto con los resúmenes de los 129 carteles mostrados en la reunión se puede ver en la dirección: [www.treat-nmd.eu/conference/TREAT-NMD%20Conference%20Abstract%20Book%202009.pdf](http://www.treat-nmd.eu/conference/TREAT-NMD%20Conference%20Abstract%20Book%202009.pdf).

## **La distrofia muscular Duchenne, la larga marcha de las partes hacia el todo.**

Conferencia magistral de apertura de **Gertjan van Ommen**, Universidad de Leiden, Holanda.

Durante los primeros 120 años desde que *Guillaume Duchenne* describió la distrofia muscular Duchenne en 1868 hasta que el gen de la distrofina y la proteína distrofina fueron encontrados en 1986/87, no pasó mucho que pudiera ayudar a los pacientes. Pero tuvo que pasar otra década antes que una técnica genética para una terapia fuera propuesta a mediados de los 90: *La omisión de exón (salto de exón, exon skipping)* "para ocultar los exones del mecanismo de empalme". Esto debe restaurar el marco de lectura en el ARN mensajero, producir una proteína distrofina acortada, y en consecuencia cambiar los síntomas severos de Duchenne en los a menudo mucho más leves de distrofia muscular Becker. Las primeras solicitudes de subvención para el desarrollo de esta técnica no tuvieron éxito debido a que la omisión de exón se consideraba "un truco bonito que nunca funcionaría en la realidad".

Pero en 2000, científicos Holandeses pudieron mostrar que en células musculares cultivadas de un chico con Duchenne con una delección en los exones 48-50, un oligonucleótido en antisentido (AO) contra el exón 51 real-

mente omitió ese exón y produjo una distrofina Becker en las fibras musculares aisladas. La primera botella de champán fue abierta, y luego muchas más cuando los próximos pasos en el camino a una terapia de omisión de exón eficaz fueron exitosos, también.

Los científicos se dieron cuenta de que "la DM Duchenne es una enfermedad que quiere ser curada", porque sin distrofina, las membranas de los músculos, pero no las de otros órganos, desarrollan agujeros y grietas. Así, los fármacos de omisión de exón pueden llegar a las fibras musculares con facilidad, son *específicos a los músculos*. Sin embargo, la omisión de exón sólo será capaz de aminorar la rápida degeneración muscular de Duchenne a la mucha más lenta distrofia Becker. Sería *una terapia eficaz*, pero no una cura completa.

Ahora, cuatro ensayos clínicos con chicos con Duchenne, que necesitan la omisión del exón 51, se llevaron a cabo con resultados positivos, dos locales en un solo músculo para una *prueba de concepto*, y dos sistémicos con inyecciones de los fármacos en el torrente sanguíneo

para llegar a todos los músculos.

Omitiendo uno o varios exones ayudaría a cerca del 80% de todos los pacientes con Duchenne. En el mayor grupo de pacientes, el 13% de todos, tendría que omitirse sólo el exón 51. La gran empresa farmacéutica *Glaxo-SmithKline* hará pagos por hito de hasta 680 millones dólares a la empresa holandesa *Prosensa* en Leiden para el desarrollo de medicamentos de omisión de exón contra los exones 51 y 44 y otros dos, que se decidió después de que el próximo estudio clínico sistémico a gran escala con 150 chicos con Duchenne ha mostrado un importante beneficio clínico de esta técnica genética.

Durante los próximos años, la omisión de exón estará totalmente desarrollada para una terapia de distrofia Du-

chenne, pero hay una serie de otras enfermedades para las que esta técnica genética podría usarse para reparar proteínas, para cambiar su ubicación en las células, o para eliminar proteínas causantes de enfermedad.

El Dr. van Ommen cerró su discurso haciendo hincapié en la importancia de los registros internacionales que serían, "biobancos", con datos estandarizados de los pacientes con enfermedades raras y no tan raras que todavía son intratables. Esto daría a los científicos la oportunidad de detectar el mecanismo molecular de una enfermedad en todos los detalles para que una técnica genética exitosa enfocada precisamente pueda ser desarrollada para una terapia eficaz o incluso una cura completa.

## Hacer los ensayos clínicos en enfermedades neuromusculares una realidad.

**Cristina Csimma** (Viridante Pharmaceuticals, Cambridge, MA, EUA), presidenta del *Comité Consultivo para Terapéuticos de TREAT-NMD*, TACT, comenzó la primera sesión de la reunión con su presentación **Avanzando con el TACT** que explica cómo este nuevo comité, establecido por TREAT-NMD a principios de 2009, ayudará a los investigadores académicos e industriales, que son quienes evalúan las terapias para las enfermedades neuromusculares. La revisión y evaluación del TACT se destina a ayudar a los solicitantes a preparar y realizar ensayos clínicos, teniendo en cuenta la el potencial científico, así como un camino de desarrollo realista, que facilita el potencial de la aprobación de comercialización posterior de sus fármacos candidatos. Las reseñas se harán en estrecha colaboración entre científicos, clínicos, organizaciones de pacientes, y con el desarrollo industrial y regulatorio de entrada de fármacos.

El TACT incluye 42 miembros con amplios conocimientos científicos y desarrollo en las enfermedades neuromusculares (NMD). Sus nombres, especialidades, y fotos se pueden ver en la dirección del Internet en: [www.treat-nmd.eu/about/governance/TACT/](http://www.treat-nmd.eu/about/governance/TACT/).

Los investigadores y clínicos NMD de la academia o la industria, estén donde estén, pueden pedir al TACT una evaluación de su estrategia de investigación, cuando ellos empiezan a considerar avanzar un compuesto a ensayos clínicos con el fin de obtener asesoramiento, que puede ayudar a fortalecer su programa y prepararlo para la implementación de ensayos clínicos. Este consejo temprano se espera que proporcione una ruta más eficiente de avanzar y evitar errores y duplicidades.

El informe de evaluación del TACT será un asesoramiento objetivo y confidencial sin cargos, basándose principalmente en el plan de investigación, los datos preclínicos y cualesquiera datos clínicos disponibles en otras enfermedades. Un resumen de la evaluación del TACT se publicará en el sitio web de TREAT-NMD con el fin de proporcionar información y transparencia a la amplia comunidad. El investigador recibirá el informe de la evaluación del TACT dentro de las 6 semanas después de la reunión del TACT, que basará su examen de la solicitud completa antes de la reunión (un formulario de 15 páginas puede descargarse desde la dirección de Internet anterior). La primera reunión de revisión de fármacos del TACT se

llevará a cabo el 6 y 7 de febrero de 2010 en Roma para examinar tres solicitudes de indicación para distrofia Duchenne: Losartan, isosorbida, y Flavocosid. Las solicitudes para la segunda reunión de revisión el 5 y 6 de junio en Barcelona pueden ser enviadas hasta el 15 de marzo de 2010 a [emma.heslop@ncl.ac.uk](mailto:emma.heslop@ncl.ac.uk).

Para presentar el segundo ejemplo de una cooperación temprana entre expertos selectos, **Michael Shy** (Universidad Estatal Wayne, Detroit, EUA), de la Asociación CMTA de CMT ([www.charcot-Marie-tooth.org](http://www.charcot-Marie-tooth.org)) habló sobre **la iniciativa STAR para desarrollar terapias para el mal de Charcot-Marie-Tooth** (CMT).

CMT afecta a alrededor de 2.5 millones de personas mundialmente. No es una enfermedad mortal, pero los pacientes pierden lentamente el uso normal de sus pies, piernas, manos y brazos, ya que sus músculos se debilitan debido a que los nervios que los conducen se degeneran. Alrededor del 50% de los pacientes tienen CMT1A, la más frecuente de las más de 30 diferentes causas genéticas de CMT.

CMT1A es causado por una duplicación en uno de los genes en el cromosoma 17 que causan sobreproducción de la *proteína mielina periférica 22*, PMP22 en las células de Schwann, que producen la mielina, la materia aislante que rodea las fibras nerviosas, los axones. Mucha PMP22 conduce al deterioro de estos nervios y provoca la atrofia del tejido muscular al que se supone deben enviar las señales del cerebro.

Para una terapia del CMT, la cantidad de PMP22 debe ser reducida. Para encontrar un fármaco candidato que haga esto, CMTA financio con la iniciativa STAR, la *Estrategia para Acelerar la Investigación*, con la asistencia del Dr. **John Porter**, del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Accidentes Cerebrovasculares, NINDS. Esta iniciativa es una alianza entre la organización de pacientes CMTA y gente de negocios, el mundo académico y el gobierno.

La primera tarea fue desarrollar una *técnica de rastreo automático de alto caudal* para encontrar entre un gran número de compuestos químicos a los pocos, llamados *hits*, que muestran en cultivos de células de Schwann aisladas las propiedades deseadas de un posible fármaco CMT, la disminución de la proteína PMP22. Basándose en

el asesoramiento de los expertos de STAR y con la ayuda de capital de riesgo, varios cientos de miles de compuestos se están probando en el Centro de Genómica de los NHI. Entre ellos, 10 a 12 compuestos prometedores se han identificado hasta la fecha, que ahora son sujetos a selecciones adicionales, entonces químicamente optimizado antes de que puedan convertirse en candidatos para los ensayos clínicos con pacientes.

**John Porter**, el tercer presentador en esta primera sesión de la conferencia, dijo que STAR y TACT muestran muy claramente cómo los obstáculos en las etapas de la investi-

gación pueden reducirse a fin de acelerar la traslación de la ciencia exitosa "del banco a la cama" para el beneficio de los pacientes y sus familias.

Este planteamiento debe aplicarse también a otras enfermedades. Actualmente, Myozyme® contra la enfermedad de Pompe es el único fármaco aprobado en el mercado de una enfermedad neuromuscular. Sin embargo, 239 millones de dólares sólo en 2008 han ido en forma de subvenciones de los NIH en investigación NMD. Con las palabras "es tiempo de que aprendamos unos de otros, si no somos socios, nadie va a conseguir un fármaco" John Porter concluyó su charla.

## Objetivo e identificación de candidatos.

En esta sesión sobre los métodos para encontrar posibles sustancias químicas que podrían utilizarse para una terapia de las enfermedades neuromusculares, **John Babiak**, (PTC Therapeutics, South Plainfield NJ, EUA) habló sobre el **primer paso en la búsqueda de terapéuticos críticos**. PTC significa "Control Post Transcripción", porque la especialidad de esta compañía es el desarrollo de medicamentos que reparen el mensaje genético dañado de un gen de una enfermedad hereditaria después de este se transcribe, copia, del ADN al ARNm en el núcleo de una célula. El primer paso para encontrar un compuesto químico que podría utilizarse para reparar el error en el gen, su mutación, es una técnica de laboratorio llamada *de rastreo de alto caudal*.

Muchos miles de diferentes productos químicos de pequeña molécula, que se pueden comprar en empresas especializadas, se analizan en instrumentos de laboratorio altamente automatizado para determinar si podría tener un efecto positivo en un proceso de enfermedad. Un ensayo válido debe estar disponible que dé una señal medible en un sistema de prueba, que será diferente para diferentes enfermedades. Para encontrar un fármaco para la distrofia Duchenne, por ejemplo, tal ensayo debe indicar la aparición de distrofina en las células precursoras de músculo como miotubos, que puede ser medida en un sistema de prueba usando la luz que produce la enzima luciferasa de luciérnagas.

Pero no es necesario que sea conocido el mecanismo molecular exacto, la farmacocinética, se sabe de cómo los síntomas de la enfermedad se deben a una mutación genética o algún otro proceso. *La selección es fenotípica, independiente de un objetivo*.

Aquellos compuestos que dan un resultado positivo en el procedimiento de selección se llaman *aciertos (hits)*. En un largo proceso que involucra muchos químicos y dura varios años, los aciertos más prometedores son optimizados hasta que algunos pueden volverse fármacos candidatos que muestran las actividades deseadas *in vitro*, en cultivos celulares y *in vivo*, en animales vivos que son un modelo válido de la enfermedad humana en estudio. Los candidatos no deben ser tóxicos, fácil de administrar, y fácil de preparar en grandes cantidades.

PTC ha utilizado rastreo de alto caudal para la identificación y optimización de los fármacos candidatos para la supresión de mutaciones sin sentido que causan un codón de parada prematuro en un 15% de los pacientes con Du-

chenne. El PTC124, ahora se llama *Ataluren*®, ya está siendo probado clínicamente en contra de Duchenne, así como contra la fibrosis quística. Un número de otras enfermedades, como algunas distrofias limbogirdle (cinturas), atrofia muscular espinal, y hemofilia también son causadas en parte por los codones de parada prematuros que pueden ser influidos por fármacos como el Ataluren.

PTC ha utilizado rastreo de alto caudal también en otros enfoques farmacológicos para encontrar terapias para todos los pacientes con Duchenne, independiente de sus mutaciones de la distrofina. Aquí, con la tecnología GEMS - *Modulación de expresión génica por moléculas pequeñas* - la producción de proteínas aumenta o disminuye, sin la necesidad de conocer el mecanismo exacto. Dentro del *Proyecto Catalyst*, varios aciertos están siendo optimizados para el aumento de la expresión de utrofina, integrina alfa7, mIGF1 y SERCA2a así como para la disminución de la miostatina. Los cinco procedimientos han mostrado efectos positivos en animales de laboratorio distrofos, y los ensayos clínicos con pacientes se están preparando.

En la segunda presentación de esta sesión, **Jenny Morgan**, (Universidad College, Londres) habló sobre los **"Inconvenientes y posibles soluciones para la utilización de mioblastos para detección de oligonucleótidos en antisentido para la omisión de exón de la distrofina"**. Los mioblastos son células precursoras de músculo, que son un paso más desarrollado que las células satélite, las primeras células madre "adultas" de músculo esquelético. Los mioblastos contribuyen a la regeneración y reparación del tejido muscular después de una lesión, ya que se diferencian en miotubos, y finalmente en fibras musculares funcionales.

Debido a que los mioblastos pueden crecer en cultivos de células, pueden ser usados para probar terapias musculares en el laboratorio y en animales vivos. Por ejemplo, la omisión de un exón seleccionado con un oligonucleótido antisentido, AO, para una terapia de Duchenne puede confirmarse en experimentos pre-clínicos para cada paciente en un ensayo clínico en un cultivo celular de sus propios mioblastos antes de tratarse con su fármaco candidato *personal* de omisión de exón. Sin embargo, una muestra de tejido muscular del paciente, obtenida por biopsia, es necesaria para el aislamiento de los mioblastos que tienen su mutación en su gen de la distrofina.

El aislamiento de estos mioblastos Duchenne no es

fácil, porque durante la siguiente purificación basada en marcadores de proteínas específicos en la superficie celular, pueden cambiar sus propiedades en el cultivo de tejidos y ya no se diferencian en miotubos. También se multiplican más lento que el mioblastos normal y, a menudo dejan de dividirse antes de tiempo. A causa de estas dificultades para mantener un cultivo de mioblastos con propiedades constantes durante algún tiempo, un segundo experimento de omisión de exón a menudo no puede realizarse para confirmar los resultados de la primera prueba.

Por esta razón, los fibroblastos de una biopsia de piel también se han usado para este tipo de investigaciones preclínicas. Son fáciles de aislar, pero el gen para la proteína marcadora MyoD tiene que ser transferido a ellos por un vector AAV - tienen que ser *MioD* transfectados - antes de que puedan ser usados para experimentos de omisión de exón en el que la secuencia del ARNm omitido pueda determinarse, pero no lo suficientemente bien la estructura de la proteína distrofina. Otra posibilidad es la inmortalización de mioblastos con la transfección con las enzimas telomerasa y ciclina dependiente de quinasa 4. Estos cultivos de células de larga vida permiten la repetición de experimentos en el laboratorio y en animales vivos, pero su preparación es un trabajo intensivo, y los mioblastos de músculos Duchenne a menudo no son suficientemente biogénicos, es decir, que no cambian fácilmente en miotubos y fibras musculares.

La Dra. Morgan terminó su presentación, por lo que sugiere que los mioblastos Duchenne inmortalizados y fibroblastos MioD transfectados con mutaciones definidas de sus genes de la distrofina, deben estar disponibles en bancos biológicos que sirvan como pruebas de control de omisión de exón antes de los ensayos clínicos.

**Rebecca Pruss** (Trophos SA, Marsella, Francia), explicó en su presentación con el título **¿Dónde está el objetivo? Descubrimiento de fármacos e identificación de objetivos se aplica a las enfermedades de la neurona motora**, que su compañía está utilizando rastreo de alto caudal para encontrar medicamentos para enfermedades de la neurona motora, *esclerosis lateral amiotrófica*, ALS, y *atrofia muscular espinal*, SMA. Una posible causa de estas dos enfermedades es la pérdida de contacto entre la neurona motora y la célula del músculo en la unión neuromuscular, lo que priva a las neuronas motoras de factores de crecimiento provistos por el músculo. Esto lleva finalmente a la muerte de la neurona motora pero el mecanismo exacto del proceso de la enfermedad, o que objetivo molecular para utilizar en un ensayo de detección de fármacos, no se conoce y no tiene que ser conocido.

Por esta razón, los científicos de Trophos están usando neuronas motoras *vivas* para el ensayo de rastreo. Cada recipiente de la bandeja donde la prueba de reacción se realiza contiene 100 - 400 células vivas. Todos los procesos después de la preparación de las células están automatizados y los datos se colectan mediante un recientemente desarrollado instrumento de análisis llamado *Plate Runner HD*, que determina el número de células vivas 2 a 6 días después de la adición de los compuestos a ser supervisados por la medición de luz fluorescente en tres longitudes de onda diferentes. La supervivencia de la neurona motora es detectada por la capacidad de convertir una sustancia añ-

da al medio de cultivo a un producto celular fluorescente, que es el punto final del proceso de selección. En otras palabras: El número de células motoras mantenidas vivas al final del ensayo es una indicación de la actividad del compuesto probado.

Entre 40,000 compuestos probados, incluyendo algunos medicamentos aprobados contra otras enfermedades y factores conocidos que influyen positivamente en las células nerviosas, se encontraron *seis aciertos*. Fueron esteroides y compuestos similares a esteroides. Para la optimización de los aciertos, 300 compuestos similares fueron comprados o nuevamente sintetizados. Uno de ellos, TRO19622, también llamado *olesoxime* tiene las mejores propiedades como un fármaco candidato para enfermedades de la neurona motora. Esta es una sustancia lipofílica con una estructura similar al colesterol que puede ser formulada en capsulas. Se transporta a las células y entra a la mitocondria, los órganos productores de energía de las células, donde parece reducir las consecuencias del estrés oxidativo. Químicamente, puede ser sintetizado fácilmente en lotes de 100 kilogramos en calidad de grado clínico.

El olesoxime ahora se está probando en un ensayo clínico de fase III con pacientes con ELA. Además, ha completado una fase de prueba Ib en pacientes con SMA, y un ensayo de fase III se iniciará en 2010. El olesoxime también es un fármaco candidato para *neuropatía periférica inducida por quimioterapia*, CIPN, un efecto secundario aún intratable de terapias contra el cáncer. Otro fármaco candidato es el TRO40303, que está siendo desarrollado para tratar la *lesión cardíaca de isquemia-reperfusión*, IRI, y Trophos tiene otros programas en curso para encontrar medicamentos para tratar la *esclerosis múltiple*, *enfermedad de Parkinson* y otras enfermedades neurológicas.

**Gideon Dreyfuss** (Instituto Médico Howard Hughes, Universidad de Pennsylvania en Filadelfia) discutió en su presentación **Función de la SMN y rastreo de alto caudal para la SMA**, del trabajo para definir la función molecular y encontrar compuestos que aumenten la cantidad o actividad de la proteína de *supervivencia-de-neurona-motora*, SMN, en pacientes con *atrofia muscular espinal*, SMA, una severa y todavía incurable enfermedad hereditaria autosómica.

El gen de la proteína SMN en el cromosoma 5 se presenta en dos copias, SMN1 y SMN2, ambas codifican la misma proteína SMN. Sin embargo, el empalme del ARN mensajero (ARNm) del gen SMN2 es ineficiente en producir el ARNm entero de la SMN, debido a una mutación puntual que provoca la omisión del exón 7. La proteína SMN de extensión completa es funcional, pero esta SMN que carece de la secuencia codificada por el exón 7 se degrada rápidamente. Esto es inconsecuente, siempre que el gen SMN1 está intacto, pero deleciones en el SMN1, que se producen en la mayoría de pacientes con SMA, deja al SMN2 como la única fuente de SMN y de ese modo a una deficiencia de SMN de longitud completa. Sólo alrededor del 20% del SMN2 deriva en ARNm que produce proteína de extensión completa y funcional, y esta no es suficiente para mantener las unidades motoras, especialmente de las neuronas motoras, con sus axones muy largos y sus placas terminales neuromusculares que conectan a las células musculares. La consecuencia es SMA que se manifiesta

como tipos clínicos de diferentes grados de severidad dependiendo de la cantidad restante de proteína SMN normal (que se correlaciona con el número de copias del gen SMN2). El Dr. Dreyfuss describió estudios que revelan una función crítica de la proteína SMN en la biogénesis de la maquinaria de empalme en todas las células. Estudios ya han diseccionado el proceso bioquímico por el cual la SMN, junto con sus proteínas asociadas (llamadas geminas) crean subunidades que las células usan para el empalme del ARN pre-m para producir ARNm. Análisis profundo de esta investigación básica y las herramientas generadas en el curso de este trabajo sugieren nuevos enfoques para aumentar la proteína SMN, o compensar la pérdida de la actividad de SMN en las células del paciente SMA.

Una manera de una terapia de SMA sería el aumento de la cantidad de proteína SMN del gen SMN2 en los pacientes. El Dr. Dreyfuss describe al gen SMN2 como "una oportunidad terapéutica" y delineo varios enfoques que él y sus colegas desarrollaron en la búsqueda de una terapia para la SMA. En particular, utilizando una de estas tecnologías para buscar compuestos que puedan aumentar proteína SMN de longitud completa en las células del paciente SMA - mediante cualquier mecanismo -, la gran compañía farmacéutica Merck & Co ha probado cerca de 1.2 millones de compuestos en un programa automático de rastreo de alto caudal realizado en un proyecto entre la industria y academia para ayudar al Dr. Dreyfuss y su equipo para

desarrollar una terapia de SMA. Para este rastreo, una celda basada en inmunoensayo, CIA, fue desarrollada para detectar la proteína SMN directamente en las células de fibroblasto, obtenidas de una biopsia de piel de un niño SMA. Aciertos del rastreo primario fueron entonces seleccionados mediante una matriz de selecciones y ensayos adicionales. Ejemplos de varios aciertos seleccionados ilustra la promesa de este esfuerzo, y señaló la gran cantidad de trabajo que se ha hecho y que será necesario hacer para desarrollar esto. La colaboración con Merck & Co es continua y esfuerzos también se están realizando para buscar compuestos que puedan influir en otros procesos responsables de los síntomas clínicos de los pacientes con SMA.

En un ejemplo de otro gran programa de rastreo primario en más de 65,000 compuestos el laboratorio del Dr. Dreyfuss identifico compuestos que modulan la actividad bioquímica del complejo SMN-Gemina. Hasta la fecha estos agentes oxidativos se han identificados como agentes inhibidores que pueden paralizar el complejo SMN. Estos compuestos proporcionan invaluable reagentes de investigación muy interesantes para comprender la regulación del complejo SMN, sugerir formas de protegerlo de los daños ambientales, y podría conducir al diseño de aumentadores que pueden convertirse en fármacos candidatos para los ensayos clínicos con pacientes.

## Evaluación de modelo animal.

Uno de los retos más importantes para el desarrollo de nuevas y prometedoras terapias para la enfermedad humana es la "traslación del laboratorio a la clínica". El reto es tomar los tratamientos que parecen ser eficaces en experimentos preclínicos con animales de laboratorio y probar la eficacia de estos tratamientos en ensayos clínicos en humanos. En esta sección, *Michael Benatar* (Universidad de Emory en Atlanta, GA, EUA) en su presentación **Perdidos en la traslación: lecciones para la ALS del ratón SOD1**, pregunta primero si el animal de laboratorio más comúnmente utilizados para las pruebas de medicamentos posibles para el tratamiento de humanos con *esclerosis lateral amiotrófica*, ALS, el ratón SOD1, realmente es un buen modelo de la enfermedad con el fin de predecir cómo los pacientes con ALS responderían.

La ALS es la mas común enfermedad de la neurona motora que afecta principalmente personas entre las edades de 40 y 70 años, y cerca de la mitad de ellos mueren 3 a 5 años tras el diagnóstico de una parálisis general de todos los músculos. En Europa y los Estados Unidos, alrededor de 75,000 pacientes de ALS viven en cualquier momento. No existe una terapia eficaz, el único fármaco aprobado, Riluzole, prolonga la vida sólo modestamente. Se encontró antes de que el modelo de ratón de ALS estuviera disponible y sólo tiene un efecto muy modesto, en su caso, sobre la supervivencia del ratón SOD1.

Cerca del 90% de los pacientes tienen la forma esporádica de ALS y el 10% tiene la forma familiar del cual 20% tienen una mutación en el gen SOD1 para la enzima *superóxido dismutasa 1*, que destruye el agente toxico oxidante peróxido de hidrogeno. El animal de laboratorio más co-

múnmente usado como modelo de ALS, se basa en la introducción del gen SOD1 mutante humano en el ratón. Aunque el ratón SOD1 recapitula varios aspectos de la ALS humana, hay muchas diferencias importantes. Por ejemplo, este modelo de ratón es genéticamente relevante en sólo el 2% de todos los pacientes de ALS, y esta resulta de una masiva sobreexpresión de la proteína SOD1 de una manera que no es comparable a la forma humana de la enfermedad.

Aparte de la cuestión de la idoneidad del ratón SOD1 como modelo para la evaluación preclínica de las terapias potenciales para la ALS humana, las cuestiones sobre la calidad metodológica de muchos de estos estudios preclínicos terapéuticos hacen que sea muy difícil interpretar los resultados. Mucho más, varios de los estudios terapéuticos en ratones, con resultados negativos no se han publicado. Por lo que es todavía es imposible decir si los resultados de los experimentos con el ratón SOD1 son predictivos de lo que podría ocurrir en un estudio clínico en humanos. Así pues, un modelo animal de ALS, que sea confiablemente predictivo de los efectos beneficiosos en los seres humanos con ALS, no está todavía disponible.

**Discusión:** El modelo animal ideal es el que duplica la enfermedad humana completamente o casi. El ratón SOD1 no es un modelo ideal para la ALS. El ratón mdx que no tiene distrofina pero tampoco los síntomas graves de los chicos con Duchenne es un modelo mucho mejor y, por tanto, es utilizado ampliamente en experimentos preclínicos. El ratón doble-KO, que no tiene ni distrofina ni utrofina, y cuatro otros de tales ratones mutantes dobles tienen

síntomas similares a los de Duchenne, pero debido a que sus mutaciones son diferentes de aquellas de los chicos con Duchenne, son menos útiles que los ratones mdx para predecir los efectos terapéuticos en pacientes humanos.

El perro GRMD distrófico es muy valioso para los estudios de distrofia Duchenne, debido a su tamaño, así los fármacos pueden ser probados con dosis similares a las que más tarde serán necesarias para chicos con Duchenne. Similares resultados positivos, en ambos animales, el ratón mdx y el perro GRMD, da a los investigadores confianza que el medicamento probado traerá los mismos resultados en los niños. Por las mismas razones, cerdos con SMA son ahora desarrollados.

Los ensayos clínicos con pacientes humanos, sólo deben iniciarse cuando los experimentos con animales han demostrado una eficacia significativa, no sólo resultados límite. Todos los resultados de estudios preclínicos con animales, también aquellos con resultados negativos, de-

ben publicarse.

TREAT-NMD desarrolla procedimientos normalizados de trabajo, SOPs, para probar fármacos y tratamientos en animales de laboratorio, dirección del Internet: [www.treat-nmd.eu/research/preclinical/SOPs/](http://www.treat-nmd.eu/research/preclinical/SOPs/). A raíz de esas normas se podría evitar errores costosos y permiten una fácil comparación de los resultados de diferentes laboratorios. Los experimentos también deben hacerse de acuerdo a las directrices de buenas prácticas de laboratorio, que describe una práctica aceptada en general de laboratorio.

Los animales de laboratorio debe ser tratados con gran cuidado tan humanamente posible, y la cirugía debe realizarse con anestesia. Los científicos deben explicar activamente al público cómo cuidan a sus animales, cómo hacen experimentos con ellos, y por qué son necesarios para encontrar terapias para enfermedades incurables, a menudo con técnicas completamente nuevas cuando no existen alternativas

### Concepto terapéutico errado y consideración ética.

**Simon Woods** (un especialista en ética de la Universidad de Newcastle, y colaborador de TREAT-NMD, Reino Unido), presidió un debate y una mesa redonda en la que fue - en mi opinión - la sesión más importante de la reunión. El Dr. Woods comenzó haciendo hincapié en que la participación de los pacientes con enfermedades raras en los ensayos clínicos es absolutamente necesaria y debe basarse en el voluntario y adecuado consentimiento informado. Sin embargo, hay evidencia de que los padres, que tienen que dar este consentimiento en nombre de sus hijos, pueden ser incapaces de distinguir entre la investigación y el tratamiento. El llamado *concepto terapéutico errado* puede existir cuando los participantes de un ensayo clínico creen que su propósito central es proporcionar un beneficio terapéutico.

Sin embargo, los ensayos clínicos son sólo un paso en el *proceso científico* en el camino hacia una terapia eficaz. El Dr. Woods definió la ciencia como "preocupación en hacer declaraciones prudentes de conocimiento basado en la mejor evidencia posible y equilibrado por una sana voluntad de volver a evaluar este conocimiento a la luz de nueva evidencia". Por lo tanto, un ensayo clínico es *sólo un experimento científico* que no garantiza resultados positivos, y a pesar de los experimentos pre-clínicos cuidadosamente realizados antes que un ensayo se inicie, esto todavía puede implicar riesgos desconocidos. Esto es particularmente cierto de las tempranas fase I y fase II de ensayos que tienen por objeto comprobar si el nuevo procedimiento es seguro. Cualquier médico que invita a los pacientes a participar en un ensayo debe tener en cuenta la exigencia del juramento Hipocrático a no hacer daño. Así, en esta etapa temprana, un beneficio terapéutico no puede ser esperado y es a veces imposible, se trata por ejemplo sólo un solo músculo.

Los científicos y médicos que realizan el ensayo clínico tienen que hacer todo lo posible para informar a los padres de un niño con una enfermedad muscular sobre todos los detalles de la prueba. Pero si después de estas explicaciones, los padres todavía no distinguen entre la investigación y tratamiento, y dicen que su acuerdo para participar se ba-

sa en una esperanza irreal para un beneficio terapéutico, entonces este concepto errado puede poner en peligro su capacidad para dar su *consentimiento voluntario e informado*. Este problema se puso a la audiencia como punto de partida para el debate y la discusión. La siguiente moción propuesta fue:

*Los padres que expresan esperanza en la posibilidad de beneficio terapéutico de la participación en ensayos clínicos no se les debe permitir consentan que sus hijos entren a los ensayos.*

Estoy aquí informando en forma abreviada de la complejidad resultante y, a veces emocionales 70-minutos de larga discusión entre el público y miembros del grupo de expertos invitados. El debate fue muy amplio y con tres excepciones, al final, que no pude identificar por su voz en las grabaciones de los que hicieron las declaraciones.

Varios puntos importantes se hicieron sobre las responsabilidades de los investigadores: Los científicos que realizan un ensayo deben explicar los detalles del estudio en una conversación relajada, en lenguaje ordinario y con un montón de tiempo ", justo para sentarse con una taza de café". Ellos deben hablar despacio, frase por frase, usando palabras ordinarias, sin expresiones médicas o científicas. A los padres se les debe pedir que resuman que entendieron de lo que se dijo y esto proporcionaría una oportunidad al investigador para corregir cualquier malentendido.

El riesgo de que algo serio e inesperado pueda suceder debe ser discutido abiertamente. Por ejemplo, los estudios animales tienen algunas limitaciones en términos de predecir cuándo se mueven a estudios en humanos. Después de todo, los ratones mdx están todos relacionados. Ellos pertenecen a una familia, por lo que los resultados de experimentos con ellos pueden ser menos variables que los de los ensayos clínicos con humanos, que son tan diferentes entre sí. Los resultados de ensayos con seres humanos no son 100% predecibles, *¡un niño no es un ratón grande y ni un perro tampoco!*

No es inusual que una relación personal especial se desarrolle entre las familias y su médico especialista. A menudo, este especialista también pertenece al equipo que

realiza la prueba. Las familias entonces confiarán en sus "cuidadores", sabiendo que siempre actuarán en el mejor interés del paciente. En estas condiciones, las familias suelen aceptar al médico y firman el formulario de consentimiento con confianza, sin largas explicaciones, pero con el riesgo de que no entiendan completamente el estudio y los riesgos. Las familias y los médicos por lo tanto deben tener cuidado para garantizar que los datos de un estudio se analizan en detalle.

Familias con niños enfermos mayores, que tienen experiencia de ensayos clínicos, pueden ser capaces de ayudar a aquellos cuyos hijos son de nuevo diagnóstico a entender este tema. Asociaciones de padres también pueden ser de gran ayuda, pero deben tener cuidado de no sólo fomentar la participación en la investigación, sino permitir a los padres obtener información precisa y detallada para que puedan crear sus propias ideas.

Además, un formulario de consentimiento estándar, o al menos una plantilla con buenos ejemplos en un claro lenguaje sería de ayuda. Muchos investigadores también dan ejemplos de textos que tratan de explicar los aspectos importantes de ensayos clínicos a los padres y pacientes en lenguaje amable.

Un aspecto muy importante de la discusión se dirigió a la opinión de que la "esperanza" es una condición natural del espíritu humano y que no descalifica a alguien de pensar racionalmente. Los pacientes no tienen tiempo para esperar por muchos años, y muchos sienten que su tiempo se está agotando, que lleva a algunos a considerar la participación en un ensayo como última esperanza. También se señaló que incluso los que reconocen hay pocas posibilidades de beneficio personal - como un hombre joven de 20 años de edad con Duchenne - pueden todavía desear participar en la investigación, con el deseo de ayudar a los que vienen "detrás de ellos" tomando parte en un ensayo. La esperanza para un beneficio personal no siempre es la única razón para tratar de estar en un ensayo. El altruismo de desear ayudar a otros pacientes o a la comunidad NMD en general, también puede desempeñar un papel. Nadie debe ser juzgado debido a sus motivaciones para participar.

Mientras escribía este informe, se me ocurrió que hay otra razón para la esperanza: Si al final de un ensayo los resultados preliminares se consideran positivos, a veces hay una *extensión abierta* en la que todos los participantes, también los que recibieron placebo, pueden recibir el fármaco probado antes de su aprobación oficial. Esto, creo, podría ser una poderosa razón de esperanza de un beneficio terapéutico.

**Nick Catlin**, presidente de ActionDuchenne, que tiene un niño de 9 años de edad con Duchenne, dijo: "Estamos afectados por la enfermedad y por lo tanto somos más "vulnerables" que con niños sanos, pero eso no quiere decir que estamos mentalmente inestables. Todavía podemos hacer decisiones racionales y claras para nuestros niños. Comenzando el día en que escuché el diagnóstico terrible, estamos luchando con la sentencia de muerte de un niño que aún está corriendo como uno normal. Tenemos altos y bajos, en algunos días se puede hacer frente a esta situación, pero hay días en que nos dan ganas de llorar.

Pero no perdemos nuestra facultad de pensar. Sabemos la diferencia entre riesgo y beneficio. Pero no siempre se dan todos los hechos y, a menudo no se toman en serio.

John Porter tenía razón cuando dijo que en la nueva era de la medicina personalizada debe haber colaboración entre nosotros y ustedes, los científicos y clínicos, con nosotros la parte central de la misma. Si no nos incluyen, ustedes van a fracasar. Pero no queremos perder esta oportunidad de ir adelante hacia una terapia".

La presidenta del Parent Project Muscular Dystrophy, PPMD, **Patricia Furlong** nos dijo que sus dos hijos, Christopher y Patrick, murieron de Duchenne en 1995 y 1996 y luego continuó: "Ellos habían participado unos años antes en los estudios clínicos sin éxito con la técnica de transferencia de mioblastos. Había sido una experiencia atemorizante, y yo me preguntaba, ¿cuál es la dosis terapéutica de esperanza, que se nos permite tener?"

Queremos lo mejor para nuestros hijos desde el día en que nacen, y la DM Duchenne no cambia eso. Queremos ser socios en igualdad con ustedes, los científicos y médicos, y tenemos que ser informado en un diálogo activo continuo sobre todos los detalles de un ensayo con palabras que somos capaces de entender. Es necesario el diálogo para expresar nuestra preocupación y escuchar su respuesta. Les informaremos sobre nuestra carga, porque ustedes no viven en nuestra casa las 24 horas del día. ¡Es muy diferente de lo que se imaginan! Todos tenemos nuestra esperanza, pero ustedes tienen esperanza también, lo sé, de lo contrario no habría ninguna investigación y ensayos clínicos. Para nuestros niños necesitamos la luz al final del túnel muy largo".

El Dr. **Karl Bettelheim**, director de ActionDuchenne y abuelo de Frederick, un niño de 7 años con Duchenne, usó palabras drásticas para hacer su oposición a la propuesta: "Esta propuesta es, en mi opinión, un insulto triple. En primer lugar, es un insulto a los científicos que realizan el ensayo clínico, ya que implica que no lo harían suficientemente bien. En segundo lugar, es un insulto a los padres, puesto que implica que los padres intentan falsificar los resultados de la prueba, sometiéndolo a sus hijos a una cierta presión. Y, finalmente, es un insulto a los niños, porque implicaría que sólo participarían en un ensayo porque esperan un posible beneficio de ella.

Uno tiene que mirar a la conclusión lógica de esta propuesta: Sólo los padres que no expresan esperanza en la posibilidad de beneficio terapéutico de un ensayo clínico, se debe permitir el consentimiento de que sus niños entren en los ensayos. Pero creo que, los padres que no expresan esperanza, serán muy difícil de encontrar. Así, he hecho una declaración de corrección de ensayo clínico: Esta es una doctrina promovida por los especialistas en ética delirantes, que tienen adelante la proposición de que es muy posible hacerse entre ellos lucir como los únicos jueces de la moral y la ética, sin consideración de si los padres que quieren lo mejor para sus hijos sean moral y éticamente perjudicados.

Para dejar claro lo que quiero decir, permítanme describir una escena de una película de la BBC que se desarrolla en mayo de 1941, para la que ha actuado como asesor científico. En un hospital de Oxford, Johnny Cox, un niño de 4 años de edad, yace en estado de coma. A un lado de su cama se encuentra a su padre, el Sr. Cox, en el otro lado se encuentra el científico clínico que dice al Sr. Cox: "No hay garantías, Sr. Cox, los últimos pacientes en que probamos este medicamento, no lo lograron". El Sr. Cox respon-

de: "Yo sé que ustedes no prometen un milagro, yo entiendo eso". Al día siguiente, hubo una mejora significativa. El científico clínico dice: "Vamos a darle las 4 semanas de tratamiento completo, incluso si parece estar plenamente recuperado, no pararemos". Tres días más tarde, a pesar de parecer bien, el tiene convulsiones y murió en diez minutos. El post mortem reveló, que el niño no murió de la infección bacteriana que tenía, murió de una ruptura de la arteria carótida, causado por la infección. El fármaco que le dieron fue la penicilina y este fue el primer ensayo clínico con este primer antibiótico.

Yo diría que cualquiera en esta sala, que se benefició de ser tratado con penicilina o cualquier antibiótico descubierto posteriormente, como resultado del gran descubrimiento de la penicilina, está en deber de votar en contra de esta moción atroces".

¡Y así se hizo! Se nos pidió que sostuviéramos nuestras tarjetas azules si apoyamos la moción y nuestras tarjetas amarillas, si estaban en contra. Después de algunos mo-

mentos, el resultado fue claro: Alrededor del 98% de todas las personas en la audiencia levanto sus tarjetas amarillas. No fue necesario pedir a los apoyantes mostrar sus tarjetas de color azul.

El Dr. Woods agregó la siguiente conclusión a mi resumen: "El debate es complejo, detallado y emotivo, sin embargo, se elaboraron una serie de conclusiones. Se reconoció que los investigadores deben trabajar en estrecha colaboración con los padres y pacientes. Se observó que la esperanza es una parte importante y necesaria para lidiar con estas enfermedades, pero la esperanza no debe cegar a los padres y pacientes de los riesgos reales de participar en una investigación. Se necesita más trabajo para permitir la colaboración y trabajo conjuntos con altos estándares de prácticas en la investigación, para desarrollar información de buena calidad, y garantizar que los mejores métodos posibles se utilizan en todo el mundo para permitir la participación segura y ética en la investigación"

## Desarrollo de nuevas terapias dirigidas a la enfermedad y la entrega sistémica.

La lectura de nota de esta sesión: **nuevos tratamientos para las enfermedades neuromusculares hereditarias** fue entregada por **Kenneth Fischbeck** (Institutos Nacionales de Enfermedades Neurológicas y Apoplejía, NINDS, en Bethesda cerca de Washington DC, EUA). El Dr. Fischbeck discutió los retos terapéuticos de la distrofia muscular y oportunidades para la intervención terapéutica.

Enfoques farmacológicos incluyen agentes como el Ataluren® de PTC Therapeutics que corrige la traducción de un ARNm mutante, y agentes que mejoran la regeneración muscular, tales como los inhibidores de la miostatina. La terapia de reemplazo génico se ha perseguido para la distrofia muscular Duchenne con adenovirus, virus adenoasociados (AAV), y la inyección directa de plásmidos en modelos animales con algún beneficio, a pesar de una marcada respuesta inflamatoria que ocurre en perros con la entrega con AAV. Un ensayo en humanos de AAV con distrofina truncada, se está haciendo actualmente por el Dr. **Jerry Mendell** y su equipo en el Children's Hospital Nacional, en Columbus Ohio, EUA.

El mismo grupo también informó recientemente el primer ensayo clínico exitoso de la entrega génica para *distrofia muscular de cinturas (limb-girdle)* tipo 2D que es causada por la pérdida del *alfa-sarcoglicano*, SGCA, una de las proteínas del complejo distrofino-glicoproteico que ancla un extremo de la distrofina a la membrana de la célula muscular. El equipo del Dr. Mendell transfirió el gen corto del SGCA para esta proteína - sólo 9,927 pares de bases - con un vector AAV1 por inyección local en el pequeño músculo del pie EDB de tres pacientes. Después de 6 semanas, el nivel de proteína había aumentado 4-5 veces sobre el nivel de control, y el complejo distrofino-glicoproteico fue restaurado. Alguna respuesta inmune contra el vector del virus fue vista, lo que significa que las reacciones inmunes deben tenerse en cuenta en futuros ensayos clínicos. Detalles de este estudio fueron publicados en septiembre de 2009 en la revista *Annals of Neurology*, volumen 66, páginas 267-270. Presentaciones sobre la entrega génica para distrofia muscular fueron dadas por

los Dres. **Jon Wolff** y **Luis García** en esta sesión y se resumen más adelante.

El Dr. Fischbeck también discutió el desarrollo de la terapia de omisión de exón con oligonucleótido para distrofia Duchenne. Los estudios preclínicos en el modelo de ratón mdx fueron alentadores, y los ensayos clínicos de inyección local fueron publicados en 2007 y 2009 por grupos en Holanda (trabajando con Prosensa) y el Reino Unido (trabajando con AVI). Estudios posteriores de ambos grupos fueron presentados por los Dres. **Judith van Deutekom** y **Francesco Muntoni** en esta sesión.

El Dr. Fischbeck también discutió la investigación para desarrollar una terapia para la atrofia muscular espinal, SMA. Con inhibidores de la histona deacetilasa, HDAC, la cantidad de proteína SMN y el tiempo de supervivencia de los ratones con SMA fue significativamente aumentado. Rastreo de alto caudal ha identificado compuestos activos que promueven la retención del exón 7 en el ARNm producido por el gen SMN2, y oligonucleótidos desarrollados por el Dr. **Adrian Krainer** son aún más eficaces en hacerlo. Estos compuestos se han encontrado para aumentar los niveles de proteína SMN que entonces mejoraran los síntomas clínicos del ratón SMA. Recientes resultados preclínicos de entrega mediada por AAV del gen SMN por el Dr. **Brian Kaspar** y otros también han sido muy alentadores y se reportaron al final de esta sesión.

Como se ha explicado en otras presentaciones, la proteína SMN juega un papel importante en los spliceosomas de todas las células. Pero es probable que sea necesario para el transporte de los ARNm a través de los largos axones de las neuronas motoras a los conos de crecimiento y las uniones neuromusculares en la conexión con las fibras musculares, donde son necesarios para la síntesis de proteínas. Por lo tanto, una cantidad insuficiente de proteína SMN interfiere con la transferencia de las señales nerviosas a los músculos y por lo tanto causa la debilidad muscular y atrofia de la SMA.

Al final de su conferencia, el Dr. Fischbeck dijo que encontrar terapias para las enfermedades neuromusculares

ha demostrado ser más difícil de lo que se pensaba hace 20 años cuando se descubrió el gen de la distrofina. Pero con las nuevas herramientas de investigación y la participación cada vez mayor de compañías farmacéuticas y de biotecnología, las barreras para un tratamiento seguro y eficaz se superaran.

Después de esta charla introductoria, los cuatro ensayos clínicos con la técnica de omisión de exón se discutieron, los dos locales cuyos resultados han sido publicados y los dos sistémicos que están terminados o casi terminados, pero cuyos resultados no se han publicitado todavía. La omisión del exón 51 fue escogida para estos primeros ensayos, porque el 13% de todos los pacientes con Duchenne - el grupo más grande que necesita omitirse un solo exón - se beneficiaría de omitir este exón en particular. Estoy resumiendo aquí las presentaciones más breves por los Dres. *Judith van Deutekom* y *Francesco Muntoni*. Más detalles de los cuatro ensayos son descritos en mi reciente informe sobre la omisión de exón, actualizado en octubre de 2009, que se puede ver en el Internet en [http://www.duchenne-information.eu/2009\\_octubre\\_salto\\_de\\_exon\\_espanol.pdf](http://www.duchenne-information.eu/2009_octubre_salto_de_exon_espanol.pdf).

En su presentación **Nuevos resultados de ensayo de omisión de exón de Prosensa**, *Judith van Deutekom* (Prosensa Therapeutics, Leiden, Holanda) dice que en realidad es bastante sorprendente que, en comparación con los programas de desarrollo típico de fármacos que toman al menos 10 años, tomó a los científicos junto con Prosensa y AVI sólo 8 años: de la primera prueba en 1998 de una omisión de exón en células musculares cultivadas de un paciente de Duchenne y en el modelo de ratón mdx, hasta el inicio de la primera prueba clínica *en el hombre* y la *prueba de principio* de esta técnica genética nueva con chicos con Duchenne en 2006.

El primer ensayo de Prosensa fue un estudio *local* que se realizó entre enero de 2006 y marzo de 2007. El oligonucleótido en antisentido (AO) modificado *2'O-metil-fosforotioato* AO PRO051 contra el exón 51 del gen humano de la distrofina, fue inyectado en un músculo de la espina de cuatro chicos con Duchenne. Después de cuatro semanas, hasta el 95% de las fibras musculares eran positivas en distrofina. Este tratamiento fue probado es seguro sin efectos secundarios, pero un beneficio terapéutico para los niños no se podía esperar. Los resultados completos fueron publicados en diciembre de 2007 en el *New England Journal of Medicine* en las páginas 2677-86 del volumen 357.

El primer ensayo de omisión de exón *sistémica* de Prosensa fue realizado en Leuven y Gotemburgo, entre abril de 2008 y mayo de 2009. Doce pacientes recibieron el PRO051 en 5 inyecciones semanales subcutáneas. Este fue un estudio de dosis-escalada con dosis entre 0.5 y 6 mg/kg. Nueva distrofina sin los aminoácidos codificados por el exón 51 se detectó en una manera relacionada a la dosis sin efectos secundarios. El objetivo principal de este estudio fue determinar si este primer tratamiento de todo el cuerpo era seguro. Pero pruebas de función muscular también se realizaron debido a que existía la posibilidad de que los chicos obtuvieran un beneficio terapéutico. A la Dra. van Deutekom no se le permitió hablar de los resultados completos del estudio. Serán conocidos después de la

publicación en los próximos meses. Los 12 pacientes participaron en una *ampliación* de este estudio con inyecciones semanales de la dosis más alta durante al menos 6 meses. Ningunos efectos secundarios relacionados con el fármaco se han detectado hasta ahora.

**Francesco Muntoni** (Universidad College, Londres, Reino Unido) discutió en su presentación de **Nuevos resultados de ensayo de omisión de exón de AVI** los dos ensayos clínicos con otro tipo de AO modificado, el AO *morfolino* contra el exón 51. En su estudio *local* entre el otoño de 2007 y finales de 2008, los científicos británicos trataron los pequeños músculo del pie EDB en un pie de siete chicos con Duchenne con sus AO morfolino AVI-4658 contra el exón 51, desarrollado por el Consorcio MDEX en colaboración con *AVI BioPharma* en Bothell, cerca de Seattle, WA, EUA. Cuatro semanas después de la inyección de 0.09 o 0.9 mg del fármaco, hasta 42% de las fibras alrededor del sitio de la inyección contenían nueva distrofina acortada en los 5 niños que recibieron la dosis más alta; no hubo producción de proteína importante en los 2 niños que recibieron sólo la dosis baja, lo que fue esperado. Al igual que en el estudio local Holandés, ningún beneficio terapéutico puede ser esperado, y no aparecieron efectos secundarios. Todos los detalles de este estudio fueron publicados en línea en agosto de 2009 en la revista *The Lancet Neurology* y luego impreso en el volumen 8, páginas 918-928.

El ensayo *sistémico* Británico comenzó en febrero de 2009 en Londres y Newcastle, será terminado en marzo de 2010. Un total de 18 niños están programados para recibir dosis escaladas del fármaco de entre 0.5 y 20 mg/kg/semana durante 12 semanas inyectado por vía intravenosa. Dos semanas antes y dos semanas después de las inyecciones, biopsias fueron realizadas para el análisis del ARNm y proteína distrofina. De nuevo, como en el estudio sistémico Holandés, la seguridad fue la principal medida del resultado, pero la función del músculo también fue supervisada porque los pacientes pueden obtener un beneficio terapéutico. Ningunos efectos secundarios relacionados con el fármaco se han detectado. Los resultados completos se conocerán después de su publicación en la segunda mitad del 2010. Sin embargo, el análisis de los primeros 12 niños tratados identificó la presencia de omisión y la producción de distrofina en al menos algunos de los pacientes tratados.

**Discusión:** No pude identificar por su voz a todos los miembros del panel que respondieron.

La omisión de exón es el enfoque de investigación más avanzado hacia una terapia de Duchenne.

*Judith van Deutekom:* Prosensa ha intentado ambos métodos de entrega sistémica (intravenosa y subcutánea) en ratones y monos. Son igual de efectivos, pero el subcutáneo minimiza el riesgo de toxicidad potencial y sería más práctico, ya que más adelante se podría aplicar en casa sin una visita al consultorio de un médico o un hospital.

*Annemieke Aartsma-Rus:* La omisión de exón no será capaz de reemplazar las fibras musculares perdidas, sino sólo mantener y estabilizar las que todavía están presentes. Así, los pacientes en silla de ruedas no podrán volver a

caminar, pero, probablemente, podrán seguir utilizando sus manos y brazos más tiempo.

*Judith van Deutekom:* No hay efectos secundarios graves de la omisión de exón con ambos tipos de AO que hayan aparecido. Pero sólo el tiempo dirá si habrá riesgos a largo plazo. Prosensa siempre comprueba las secuencias del AO para evitar efectos fuera del objetivo, y así evitar que se unan en otro lugar del genoma humano fuera del gen de la distrofina.

Ambos tipos de AO no suelen cruzar la barrera sanguínea-cerebral. Así, la omisión no afectaría a la distrofina en el cerebro que es más corta de lo normal y podría ser responsable de los problemas mentales de algunos pacientes.

La omisión de exón de los músculos cardíacos no es aún suficientemente eficiente. Podríamos crear pacientes tipo Becker con severos problemas de corazón. *Judith van Deutekom:* Los AOs 2OMePS son absorbidos por el corazón, en niveles menores, ¡pero con vida media más prolongada!!

*Judith van Deutekom:* Un fármaco AO para omitir el exón 51 será el primero en ser aprobado por la FDA y EMEA. Tomará unos cuantos años. Los próximos vendrán en corta sucesión. *Francesco Muntoni:* Estamos más cerca que nunca que fármacos de omisión exón sean aprobados. Siempre estuve equivocado cuando di un estimado de tiempo. Mi (GS) adición personal a este debate: En mi entrevista con *Gertjan van Ommen* en 2004 en Mónaco, dijo que tomaría alrededor de 10 años hasta que la omisión de exón estuviera lista para nuestros hijos.

**Jon Wolff** (Universidad de Wisconsin y Roche Madison Inc., Madison, WI, EUA) habló de sus experimentos con "ADN desnudo" en su discurso **Entrega génica en las extremidades por perfusión**.

Los plásmidos son pequeñas estructuras circulares de ADN sin proteínas dentro de las bacterias, a las que en su mayoría confiere resistencia contra los antibióticos. Para comprobar si estas estructuras de ADN desnudo podrían utilizarse como vectores para la transferencia de genes en los músculos, los científicos insertaron el ADN de 79 exones combinados, el ADNc completo, del gen de la distrofina junto a secuencias de control en los plásmidos y se inyectó este sistema de vector bajo presión en el torrente sanguíneo de las patas traseras de ratones mdx. La presión fue producida por un bloqueo a corto plazo de la circulación sanguínea con un torniquete, el globo para medir presión sanguínea. Tratamientos repetidos llevó a la producción estable de un 20% del nivel de distrofina de ratones normales, y alrededor del 15% de todas las fibras musculares en las extremidades tratadas, que se prolongó durante la vida residual de los ratones mdx. Este procedimiento *hidrodinámico* fue bien tolerado por los ratones, cuya función muscular de las extremidades tratadas mostraron una mejoría significativa.

En preparación de una posible aplicación humana, el Dr. Wolff y sus colegas entonces probaron esta terapia génica regional en monos no-distróficos. Después de una inyección única de plásmidos llevando el gen de la enzima beta-galactosidasa, 30 a 40% de las fibras musculares en las extremidades tratadas contenían esta proteína marcadora. El tratamiento a presión produce una inflamación de los

músculos que, sin embargo, desaparece después de unas 24 horas. Más de 100 extremidades de mono han sido tratadas de esa manera sin ningún tipo de efectos secundarios perjudiciales.

Los primeros experimentos humanos con tres adultos sanos han sido iniciados ahora, los que recibirán inyecciones de solución salina para comprobar si este método podría convertirse en un método de rutina para tratar a niños con Duchenne.

La próxima generación de la técnica de omisión de exón sería una que requiera sólo una única inyección del fármaco sin la necesidad de repetir tratamientos de seguimiento por el resto de la vida del paciente. Tal tratamiento fue desarrollado por el Dr. *Luis García* en el Instituto de Miología de la Universidad Pierre y Marie Curie en París, y la Dra. *Aurélie Goyenville*, ahora en la Universidad de Oxford, y sus colegas. Con esta técnica, el gen de un factor de empalmado U7 modificado con las secuencias en antisentido que se unen contra el exón seleccionado, se transfiere a las células musculares con un virus adeno-asociado, AAV, como vector que permitirá a *las células mismas poder hacer el fármaco de omisión de exón* continuamente. He descrito también los detalles de esta técnica AAV-U7 en mi informe de omisión de exón, cuya dirección de Internet se muestra al principio de esta sección.

En la reunión, *Luis García*, en su discurso titulado **Nuevos resultados de la entrega sistémica de AAV en todo el cuerpo**, presentó los primeros resultados de sus experimentos para *trasladar* los estudios en ratones mdx al más grande perro distrófico GRMD. Los experimentos con ratones han mostrado que dos meses después de la inyección del sistema AAV-U7 en su vena de la cola, la mayoría de las fibras de casi todos los músculos, también los del corazón, contenían la buscada distrofina acortada sin los aminoácidos codificados por el exón 23.

El sistema U7, que contiene secuencias en antisentido contra los exones 6 y 8 del ARNm de la distrofina de perro para restaurar el marco de lectura después de la delección del exón 7 del perro, se utilizó para el tratamiento regional de una pierna de un perro GRMD con la entrega hidrodinámica a nivel regional, método descrito por el Dr. *Jon Wolff* en la presentación anterior.

Después que resultados positivos se obtuvieron después de este tratamiento regional, una *entrega sistémica completa* a través de la circulación extracorpórea alimentada por una bomba se realizó en el perro *Droopy* distrófico. Doscientos mililitros de una solución que contiene 270 billones ( $2,7 \times 10^{14}$ ) partículas del virus fue administrada en 4 porciones de unos 5 minutos. Un bypass cardiopulmonar se utilizó para evitar en lo posible los pulmones.

Dos meses más tarde, la distribución de propagación extendida del ARNm de la distrofina sin los exones 6-9 y la proteína distrofina acortada en consecuencia, se ha detectado en todos los músculos analizados en el material de biopsia. La omisión del exón 9, no estaba prevista, pero la eliminación de este exón adicional no cambia el marco de lectura. El perro soportó muy bien el procedimiento, pero la cantidad de la nueva distrofina sintetizada es demasiado baja para tener un efecto sobre la función muscular a pesar de la gran cantidad de vectores infundida. Posiblemente los vectores fueron bloqueados por algo en el tor-

rente sanguíneo y, posteriormente, no pudieron salir de los vasos sanguíneos hacia el tejido muscular. Los estudios irán al bypass, este crucial cuello de botella y para obtener una mejora de la función muscular antes que ensayos clínicos con los chicos con Duchenne se puedan contemplar.

En la última presentación de esta sesión, **Brian Kaspar** (Nationwide Children's Hospital, Columbus OH, EUA) habló sobre la **Terapia génica para la atrofia muscular espinal (SMA)** para la que el mayor problema es la entrega sistémica de la proteína SMN a las neuronas motoras que residen en la médula espinal. A pesar de un tremendo esfuerzo por los investigadores durante los últimos 10 años, la entrega sistémica en el sistema nervioso central - SNC, el cerebro y médula espinal - ha sido un desafío. El Dr. Gaspar informó, que los investigadores han encontrado que los virus adeno-asociados tipo-9, AAV9, podrían utilizarse como un vector que puede llevar el gen de una proteína fluorescente verde marcadora, GFP, o el gen de la proteína SMN de largo completo a través de la barrera sanguínea-cerebral de ratones *recién nacidos*, la barrera que protege el SNC de sustancias dañinas. Los virus con su carga fueron capaces de entrar en un gran número de neuronas por todo el cerebro y muchas neuronas motoras en la médula espinal, donde se produjo el marcador GFP o la proteína SMN de largo completo. En los animales *adultos* tratados, sólo astrocitos - células que rodean a las células nerviosas y los vasos sanguíneos en el SNC - y sólo un

pequeño número de neuronas estaban haciendo GFP. Además, los vectores entran también a los músculos esquelético y cardíaco, en los animales recién nacidos y adultos.

Los experimentos preliminares se realizaron con el modelo animal para severa SMA Werdnig Hoffmann tipo I, el ratón SMN2-delta7. Al igual que en los pacientes humanos, este ratón no tiene funcional el gen SMN1, el ARNm de su gen SMN2 tiene una delección del exón 7. Con inyecciones sistémicas del sistema de vector AAV9-SMN en los ratones jóvenes, de 5 - 13 días de edad, los investigadores mostraron que mientras que los ratones SMA no tratados vivían sólo de 15 a 20 días, los animales tratados durante esa ventana de tiempo no tuvieron ningún síntoma más de SMA y vivieron por más de 100 días. Sin embargo, los animales crecieron más tarde a sólo la mitad del tamaño de los ratones normales.

La capacidad del sistema de vectores para entrar de manera eficiente a las neuronas motoras después de la inyección intravenosa se repitió también en otros laboratorios. Un grupo de investigación en Francia, dirigido por el Dr. *Martine Barkats* uso AAV9 en gatos SMA y obtuvieron resultados similares.

Los próximos pasos son los experimentos con primates no humanos, por ejemplo monos, para probar la aplicabilidad de este enfoque y para demostrar la seguridad, antes que ensayos clínicos con niños SMA se puedan contemplar.

## Desarrollo de registro para ensayos clínicos.

Como más y más estudios clínicos se están realizando y preparando para el desarrollo de terapias para enfermedades neuromusculares, *los registros de pacientes* se vuelven importantes para encontrar los participantes de estos estudios con diagnósticos genéticos bien definidos y datos clínicos actualizados al alcance de los centros del ensayo.

Los tres ponentes de esta sesión discutieron ejemplos exitosos, principalmente los registros internacionales globales para distrofia muscular Duchenne, DMD, y atrofia muscular espinal, SMA. Los dos registros pueden encontrarse en el Internet: [www.treat-nmd.eu/patients/patient-registries/global-registries/](http://www.treat-nmd.eu/patients/patient-registries/global-registries/). A través de la dirección de TREAT-NMD, 19 registros nacionales DMD, 17 registros de SMA, y 8 registros de distrofia miotónica tipo 1 pueden ser encontrados. Todos estos registros están conectados el uno al otro en la red de registro TREAT-NMD. Por lo tanto, los pacientes con DMD y SMA sólo tienen que estar registrados en uno, de preferencia su registro nacional, porque sus datos más relevantes, *el conjunto mínimo de datos*, se envía al registro global DMD o SMA. Los registros globales de DMD y SMA se encuentran en la Universidad de Montpellier en Francia. Los pacientes en los países sin un registro nacional pueden tener sus datos introducidos en uno de los registros que usan formularios llenados en línea.

La siguiente descripción de las ventajas y beneficios de los registros de pacientes se basa en todas las tres presentaciones en esta sesión:

(1) El acta de registros es un enlace entre los pacientes y las familias interesadas en participar en la investigación,

y los investigadores en las universidades e industrias interesadas en estudiar su enfermedad particular y el desarrollo de procedimientos terapéuticos.

(2) Permiten el movimiento más rápido de los estudios desde la concepción hasta ensayos clínicos. De este modo, promover el uso efectivo de los fondos.

(3) Los datos sobre el manejo médico de pacientes ayudará a desarrollar y mantener buenas normas de atención de acuerdo a las recomendaciones acordadas internacionalmente.

(4) Pacientes registrados y sus familias sienten que no se quedan atrás, sino que pertenecen a la comunidad de su enfermedad, porque se está obteniendo información actualizada de investigación y cuidado, especialmente sobre el inicio de los ensayos clínicos que necesitarían su participación.

(5) El curso clínico de la enfermedad del paciente desde su inicio en el pasado hasta el momento del tratamiento después de la aprobación y comercialización de "su" fármaco puede documentarse de forma continua, estos datos pueden ser utilizados para estudiar la historia natural de la enfermedad para fines de control, y para la detección de efectos secundarios y datos adicionales de eficacia que se desarrollan durante el uso a largo plazo de la droga.

(6) La disponibilidad de los datos del pasado y futuro del paciente pueden convencer a las agencias regulatorias para aprobar un medicamento para una enfermedad rara, incluso cuando los estudios de seguridad y aleatorios no se pueden realizar según lo requerido para la aprobación de fármacos "normales".

En su presentación de **la enfermedad de Huntington y SMA** *Jaqueline Jackson* (Universidad de Indiana, Bloomington, IN, EUA) nos dijo que algunos de los registros más importantes han comenzado su trabajo hace muchos años: El registro de la enfermedad de Huntington en 1979, para SMA en 1986, para enfermedad de Alzheimer en 1990, para la enfermedad de Parkinson en 1998, para la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth en 2001, y para el aneurisma intracraneal familiar en 2002. Registros de muchas otras enfermedades neuromusculares se encuentran listados en las páginas de registro de TREAT-NMD. La sede en Indiana del registro SMA contiene ahora los datos de 2,300 pacientes con SMA de 2,160 familias. El registro de la enfermedad de Huntington enlista datos de 14,000 pacientes de más de 3,000 familias con 138,000 personas.

Para que los investigadores tengan acceso a los pacientes y sus datos, tienen que presentar una propuesta de su proyecto de investigación que será revisada y luego debe ser aprobada por un comité científico asesor.

Estos registros han permitido a miles de familias a participar en la investigación y los ensayos clínicos y han llevado a miles de publicaciones sobre estas enfermedades.

*Per Nilsson* (Actelion Pharmaceuticals, Allschwil cerca de Basilea, Suiza) describió en su presentación **Perspectiva regulatoria e industrial**, las ventajas que los registros de pacientes traen a la investigación industrial. Mencionó entre los ejemplos, *Myozyme*<sup>®</sup> contra la enfermedad de Pompe por Genzyme, y *Zavesca*<sup>®</sup> contra la enfermedad de Niemann-Pick tipo C por Actelion. El desarrollo de estos dos fármacos llevó mucho tiempo y fue muy caro. Si un registro a largo plazo para estas enfermedades raras hubiera existido antes de haber iniciado el trabajo para un tratamiento eficaz, los dos fármacos podrían haber estado disponibles con mayor rapidez y a menor costo.

Otro ejemplo es el fármaco *Tracleer*<sup>®</sup>, ahora comercializado por Actelion contra la hipertensión arterial pulmonar, PAH. Tracleer fue aprobado en 2002 en la Unión Europea con los datos de 170 pacientes en dos ensayos aleatorios, con la condición de que un programa post-comercialización de manejo de riesgo se estableciera que exige que los médicos informen de los posibles efectos adversos en pacientes tratados a las autoridades de salud. Esto se pidió porque los estudios clínicos han mostrado que aproximadamente el 11% de los pacientes desarrollan aumento,

pero reversible, de los niveles de enzimas hepáticas. Este esfuerzo se tradujo en un registro de PAH que después de cuatro años contiene los datos de casi 5,000 pacientes tratados, cubriendo el 80% de las prescripciones de la UE. Este tipo de registro se ha convertido en un modelo para programas similares de vigilancia específica para otras enfermedades raras.

Un registro y estudio de pacientes para el uso de una terapia trombolítica para disolver coágulos sanguíneos en embolia isquémica se inició en 2000 en Suecia y, finalmente, incluyó 11,000 pacientes de 30 países. Este registro fue capaz de proporcionar datos importantes para demostrar que el beneficio de una terapia trombolítica en embolia isquémica, indicado por ensayos controlados con placebo se podría traducir en la práctica clínica. Esto ilustra una vez más la gran importancia de los registros de pacientes para el desarrollo de medicamentos para enfermedades graves.

*Hanns Lochmüller* (TREAT-NMD, Newcastle, Reino Unido) finalizó esta sesión con su presentación **Registros de pacientes TREAT-NMD**. Además de la información incluida en la introducción de este resumen, mencionó que le tomó tres años para reclutar a los 150 pacientes con Duchenne para el estudio alemán grande de tratamiento con prednisona en combinación con ciclosporina dirigido por el Profesor *Rudolf Korinthenberg* en el Hospital Infantil de la Universidad de Friburgo, que mostró que la adición de ciclosporina no aumentó el efecto de la prednisona sola. En ese momento, no había un registro de Duchenne que hubiera hecho el reclutamiento de los pacientes mucho más fácil y más rápido.

Una correlación genotipo-fenotipo fiable sería de gran importancia práctica porque, por instancia, permitiría predecir cuales síntomas de una distrofia Becker podría crear un fármaco de omisión de exón en particular. Los datos genéticos y clínicos de un registro DMD/DMB podría facilitar el establecimiento de tal correlación.

TREAT-NMD está preparado para ayudar a las asociaciones de padres a establecer registros de sus enfermedades neuromusculares. El Centro Neuromuscular Europeo, ENMC, en Holanda también ha contribuido a establecer y ejecutar los registros de pacientes, en cooperación con TREAT-NMD.

## Medidas de resultados clínicos.

Las medidas de resultado son herramientas para evaluar los cambios en un paciente con el tiempo. Ellos miden cambios en áreas significativas de la vida de una persona, en una forma que hace decisiones sobre tratamientos posibles. He encontrado esta definición en el Internet, y el programa de la reunión contiene las siguientes tres oraciones de introducción a esta sesión: La elección correcta de las medidas de resultado para un ensayo clínico puede ser crítica para su éxito. Hacer estas elecciones puede ser un proceso largo y lento, y si las elecciones se han hecho, hay muchas cuestiones prácticas que deben abordarse con el fin de implementar con éxito una medida de resultado en un ensayo.

Las siguientes tres presentaciones realizadas en esta sesión fueron acerca de cómo elegir las medidas de resultado, como aplicarlas y optimizarlas, y cómo asegurar su calidad: *Michael Rose* (King's College, Londres, RU) **¿Cómo debemos elegir las medidas de resultado para ensayos clínicos y estudios?** *Julaine Florence* (Universidad Washington, St. Louis MO, EUA) **Aplicación y optimización de las medidas de resultados clínicos.** *Jeremy Hobart* (Peninsula Medical School, Plymouth, RU) **Evaluación de la calidad de las medidas de resultados.**

Muchos detalles fueron dados por los oradores que, en mi opinión, pudiera realmente no ser de interés para la mayoría de los pacientes con enfermedades neuromusculares

y sus familias para las que he escrito este informe. Y como mi experiencia es la investigación de terapias de distrofia muscular Duchenne, tengo dificultades en reportar acerca de este campo técnico especial y resumiré los hechos más importantes. Por esta razón, pido a aquellos que necesitan conocer estos hechos, consultar la documentación detallada sobre las medidas de resultado publicada por TREAT-NMD en Internet: [www.researchrom.com](http://www.researchrom.com).

Sin embargo, hay una medida de resultado que vale la pena mencionar aquí: la *prueba de caminata de 6 minutos* que ahora es ampliamente utilizada en los ensayos de Du-

chenne y otras enfermedades musculares con pacientes que todavía pueden caminar. El primer estudio científico de esta prueba con Duchenne y niños sanos fue publicado en línea por la revista *Muscle & Nerve* el 25 de noviembre de 2009 por *Craig M. McDonald* y colaboradores de la Universidad de California en Davis. Los resultados del estudio indican que los chicos jóvenes con Duchenne pueden consistente y fiablemente realizar la prueba. El estudio fue patrocinado por PTC y financiado por el Parent Project Muscular Dystrophy (PPMD).

## Efectos de tratamiento a largo plazo y combinación terapéutica.

**Robert Griggs** (Universidad de Rochester, NY, EUA) comenzó esta sesión con su presentación sobre **Corticoesteroides a largo plazo en DMD: Implicaciones para los nuevos tratamientos**. El tratamiento con uno de los corticoesteroides prednisona y deflazacort, es actualmente el único tratamiento farmacológico demostrado capaz de preservar o mantener los músculos de los chicos con Duchenne por un tiempo limitado. Este tipo de tratamiento es ahora considerado el "estándar de oro" al que otros tratamientos farmacológicos desarrollados son comparados. Pero todavía hay desacuerdo sobre la respuesta a muchas preguntas: ¿Cuál es el mejor corticoide a usar a que dosis y con cual esquema de administración, cuál es la mejor edad para empezar, la dosis debe ser cambiada cuando el paciente crece, cuánto tiempo puede continuar el tratamiento, cuáles son los efectos secundarios y cómo pueden evitarse o minimizarse? Una encuesta ha mostrado que 31 diferentes regímenes de tratamiento están en uso en 60 centros clínicos de todo el mundo. Sin embargo, muchos pacientes con Duchenne todavía no reciben ningún tratamiento con corticoides.

Un amplio ensayo clínico internacional, que será financiado por los NIH, se está preparando lo que debería responder a muchas de las cuestiones mencionadas, y cuyos resultados deberían conducir a una propuesta de tratamiento estándar con corticoides con características definidas. Este ensayo se realizara en 40 centros clínicos en 11 países. Los 300 participantes, chicos con Duchenne de 4-7 años de edad en 3 grupos al azar de 100 pacientes cada uno, serán tratados durante tres años con 0.75 mg/kg/día de prednisona o 0.9 mg/kg/día de deflazacort con administración diaria o con una dosis ajustada al "régimen Dubowitz", 10 días de uso/10 días de descanso. Muchas medidas de resultado estandarizadas se utilizarán para que los resultados de los diferentes centros sean comparables. En cooperación con TREAT-NMD, un manejo estandarizado de los efectos secundarios y seguimiento a largo plazo se prevé por lo menos 10 años para detectar a corto y largo plazo, efectos positivos y negativos.

En su representación **Efectos secundarios a largo plazo de los fármacos en desarrollo para NMDs**, **Rudolf Korinthenberg** (Hospital Infantil de la Universidad de Freiburg, Alemania) dijo que en los ensayos clínicos con medicamentos de nuevo desarrollo, sólo se conocen efectos secundarios a corto plazo. Pero los medicamentos para enfermedades neuromusculares tendrán que ser tomados

por un largo tiempo, por lo que durante el período de extensión después del final de un ensayo, cuando todos los participantes estén recibiendo el medicamento nuevo, también aquellos que fueron tratados con placebo, no sólo el efecto terapéutico debe ser controlado durante varios años, si no también los efectos secundarios. Esto también es importante para la aprobación del fármaco. Esta tarea no es tan difícil si los datos de los pacientes están listados en un registro, que usa un programa activo de supervisión a largo plazo de la salud del paciente.

El Dr. Korinthenberg mostró una lista de las estrategias de tratamiento, cuyos posibles efectos a largo plazo deberían ser supervisados. Esto es especialmente importante para enfermedades neuromusculares crónicas y cuando se usan fármacos con solo efectos terapéuticos moderados. Algunos efectos secundarios inesperados pudieran ser problemas con el crecimiento, osteoporosis, hígado y la función renal e hipertensión, que pueden aparecer años después del final de los ensayos clínicos.

**Bruno Eymard** (Instituto de Miología, París, Francia) habló sobre **Estudios post-comercialización usando la enfermedad de Pompe como un paradigma**. La enfermedad de Pompe, una enfermedad de almacenamiento de glicógeno, causada por una mutación del gen de la enzima alfa-1,4-glucosidasa en el cromosoma 17, existe en dos formas con inicio temprano en la infancia y aparición tardía en adultos. La terapia de reemplazo enzimático con Myozyme<sup>®</sup> desarrollado y comercializado por la Corporación Genzyme, es eficaz en niños y fácil de supervisar. Sin embargo en los adultos, el tratamiento es difícil evaluar ya que el desarrollo clínico y los síntomas son más complejos y Myozyme tiene sólo un efecto modesto.

Debido al alto costo de Myozyme, el Ministerio de Salud Francés solicitó un estudio post-comercialización que claramente muestre efectos positivos a largo plazo del fármaco, no sólo en niños, sino también para el más difícil control de la enfermedad en pacientes adultos. Por esta razón, un registro Francés fue creado en cooperación con Genzyme, que ahora contiene cerca de 15 conjuntos de datos de 75 pacientes de Pompe. Es usado en este estudio para evaluar los pacientes, antes, durante y después del tratamiento una o dos veces al año para determinar el valor del tratamiento en la salud de los pacientes y su situación de vida, pero también para detectar efectos secundarios tardíos manifestantes. Los resultados de este estudio post-comercialización debe convencer las autoridades de salud

en Francia a seguir pagando por el tratamiento.

Este registro ha promovido una colaboración muy fructífera entre los equipos franceses que participan en la enfermedad de Pompe.

En su segunda presentación, **Francesco Muntoni** (Universidad College, Londres, RU) habló sobre la **Combinación de enfoques antiguos y nuevos. Mirar hacia adelante**, y comenzó a preguntarse si se deben hacer estudios clínicos con diferentes fármacos potenciales al mismo tiempo. ¿Cómo puede uno saber qué componente de dicha combinación de fármacos es responsable de cualquier efecto terapéutico positivo o secundario negativo?

Como más y más acercamientos tienen que ser probados en ensayos clínicos, tendremos que enfrentar los problemas de la combinación terapias. Biomarcadores para cada efecto único del fármaco sería de gran ayuda y tendría un efecto sobre las medidas de resultado que se utilizaran en el ensayo de tal combinación. Y estas medidas de resultado también deben tomar en cuenta las consecuencias personales como la creciente carga que las familias tienen que hacer frente al cuidado de sus hijos mayores enfermos y el deterioro de la calidad de vida de los pacientes.

Si 500 millones de euros, según lo ofrecido por Glaxo-SmithKline para el desarrollo de sólo cuatro fármacos omisión de exón, son necesarios para sólo el 35% de los pacientes con Duchenne, entonces vamos a necesitar varios miles de millones más para los más de 100 de estos fármacos personales para tratar 45% más pacientes. Sin embargo, el 20% restante necesitara otros fármacos, la mayoría farmacológicos, que no son específicos a la mutación. Necesitamos ayudar a estos pacientes también. Y a pesar que la distrofia Duchenne es la más frecuente de las enfermedades neuromusculares, no es la única. Para las demás, tratamientos efectivos tienen que ser encontrados, también.

Pero no sólo necesitan inmensas cantidades de dinero, necesitamos muchos más investigadores en más países que ahora nos ayudarían a desarrollar nuevos fármacos y métodos más efectivos. Y para aquellos de nuestros pacientes, que tienen que esperar muchos años más, necesitamos procedimientos mejores y estandarizados de tratamiento médico, no sólo en nuestros países desarrollados, sino en el resto del mundo también. Y todos los pacientes, sus familias y sus médicos, dónde quiera que vivan, necesitan acceder a una información actualizada de manera que ninguno de ellos se quede atrás cuando fármacos muchos más efectivos estén allí en unos pocos años.

### Discusión:

*Robert Griggs:* Si la restauración completa de la distrofina puede ser obtenida en todos los músculos, esto podría ser suficiente para la aprobación sin control con placebo.

*Francesco Muntoni:* Pero el 30% del nivel normal de distrofina podría ser suficiente para una buena función de muscular. Confío en que seremos capaces de demostrar esta correlación entre el nivel de distrofina y función muscular también en los chicos con Duchenne, tal como existe en ratones y perros distróficos.

*Petra Kaufmann:* La clave de nuestro éxito es la colaboración y el compromiso de los investigadores, médicos, la industria, y organizaciones de pacientes, nuestros grupos de interés. La recolección continuada de datos en registros es crucial para saber qué sucede con y sin tratamientos. Esto es importante para su aprobación y financiación de los NIH. *Bruno Eymard:* Los pacientes no deben perderse cuando se mudan o cambian de médicos. Buena comunicación entre los centros clínicos es esencial.

*Victor Dubowitz:* ¡No hay sustituto para el sentido común! También puede pensarse en iniciar una terapia con corticoides con la aplicación diaria por tres meses, luego cambiar a aplicación intermitente, los efectos secundarios serían menores, y si se continua por un largo tiempo, se podría reducir la dosis poco a poco hasta que el tratamiento podría incluso ser cesado por completo. Debemos tener en cuenta la experiencia con otras enfermedades como el reumatismo, donde también se utilizan corticoides y los efectos secundarios han sido estudiados desde hace mucho tiempo. *Robert Griggs:* Nuestro estudio es a largo plazo y vamos a supervisar los efectos secundarios por un tiempo demasiado largo. Cuando encontremos la terapia con menos efectos secundarios, vamos a tratar de conseguir un acuerdo de consentimiento y luego recomendar este tratamiento óptimo.

*Kate Bushby:* Cada paciente debe tener la oportunidad de tomar parte en un ensayo que es apropiado para él o ella. Y todos los pacientes deben entender que podría obtener un placebo, pero también deben saber que todos tendrán el estándar de cuidado incluyendo los corticoides y seguimiento a largo plazo.

*Elizabeth Vroom:* Recibimos peticiones de pacientes en países sin centros de prueba, ¡que incluso les gustaría emigrar y mudarse a donde estamos nosotros! Y hay pacientes cuyo fármaco de omisión de exón no puede ser desarrollado para un tiempo muy largo o incluso nunca. Deben tener acceso a los ensayos farmacológico.

*Francesco Muntoni* y otros: Los resultados de alrededor del 30% de todos los ensayos nunca se publica, a veces porque las empresas no quieren compartir sus datos. Pero todos los ensayos deberían ser publicado incluso los que estaban mal diseñados y por lo tanto tuvieron resultados negativos. Podríamos aprender de esos errores.

Un representante de Genzyme Corporation: Nuestro registro para pacientes de Pompe tiene ahora 20 años de edad, para mantenerlo y trabajar con él nos cuesta millones de dólares por año. Seguimiento a largo plazo de los pacientes con ayuda de los registros es importante para el proceso de aprobación y también para la decisión de quien más tarde pagará por el tratamiento. La prueba de caminata de 6 minutos con los pacientes de Pompe demostró el beneficio clínico de Myozyme. Los medicamentos Genzyme para la enfermedad de Fabry tomaron 15 años y para la enfermedad de Gaucher 8 años, hasta que un tratamiento óptimo se encuentra después de que los ensayos clínicos fueron realizados, y los reguladores aceptan el seguimiento de los datos como una prueba de beneficio. Usted no puede obtener tales resultados de los ensayos clínicos solos.

## Derribar las barreras entre las partes interesadas.

Lectura de nota de clausura por *Volker Straub*, Coordinador de TREAT-NMD, Universidad de Newcastle, Reino Unido.

El Dr. Straub inició su lectura de clausura preguntando, quienes son "nuestras" partes interesadas, los distintos grupos de personas con, en nuestro caso, un interés común, para encontrar formas de terapias eficaces para enfermedades neuromusculares: las organizaciones de pacientes, los científicos, los médicos, las compañías farmacéuticas grandes y pequeñas, las agencias reguladoras y de financiación. A pesar de que todos ellos desean entenderse mutuamente y trabajar juntos hacia el objetivo común, hay barreras entre ellos, porque tienen sus intereses individuales que los encauzan a desarrollar sus propios conocimientos basados en su formación y calificación profesional, su propio lenguaje especializado con palabras difíciles, y sus propias maneras de pensar sobre lo que es importante y lo que no. Estas barreras deben tomarse en serio, pueden retrasar el progreso, y es la razón por la que TREAT-NMD, nuestra Red Europea de Excelencia, lo ve como su principal tarea para que nuestros grupos de interés juntos vayan en una sola dirección que nos traerá terapias para distrofia muscular Duchenne, atrofia muscular espinal, y para muchas otras de nuestras enfermedades todavía incurables.

Tenemos que derribar estas barreras. Debemos mejorar la forma de hablar unos con otros: los científicos deben aprender a explicar sus investigaciones a los pacientes y sus familias en un idioma que puedan entender, que no es fácil, ya que no todo mundo ha aprendido cómo funciona la ciencia. La barrera del idioma está estrechamente relacionada con las diferencias culturales entre las partes interesadas. El concepto de enfermedad y tratamiento es a menudo radicalmente diferente entre las diferentes culturas y en diferentes continentes.

Las falsas expectativas también pueden ser una barrera. Diez años para desarrollar un nuevo fármaco podría pare-

cer normal para un científico, mientras que una familia con un chico con Duchenne necesita sea "mañana" antes de que sea muy tarde. Las expectativas pueden ser influenciadas por los comunicados de prensa, por publicaciones, por una campaña general y emoción sobre las nuevas tecnologías y descubrimientos. El concepto terapéutico errado o la esperanza de que habrá mejores estrategias de tratamiento en el futuro próximo son algo que no sólo afecta a pacientes y familias, sino también los médicos, científicos, industria y organismos de financiación.

El Dr. Straub señaló que las personas están intercambiando conocimientos a un ritmo cada vez mayor, que está teniendo un impacto fundamental en nuestra vida de trabajo y estilos de vida. El filósofo alemán *Hermann Lübbe* lo llama "Gegenwartsschrumpfung", la reducción del presente. El futuro para todo llega más rápido que nunca, y esperamos que terapias eficaces nos llegaran más rápido.

Para derribar las barreras, la comunicación entre las partes interesadas debe intensificarse y haber disposición a hacer esto. Esto es para nosotros juntos para decidir en qué dirección queremos movernos. Los métodos modernos de comunicación, como correo electrónico, permiten la correspondencia en todo el mundo a la velocidad de la luz, y hacen ahora posible incluso las reuniones virtuales en las que uno pueda participar activamente desde un ordenador en casa.

El Dr. Straub terminó su lectura diciendo que esta reunión con su mezcla única de presentaciones y paneles de discusión, ha demostrado lo importante que es reunirse personalmente y hablar cara a cara, y que no hay mejor forma de derribar las barreras y llegar a un acuerdo sobre las muchas maneras de cómo proceder en la dirección correcta hacia una terapia para una larga vida de nuestros pacientes.

## Algunas palabras finales

por *Kate Bushby*, Coordinadora de TREAT-NMD, Universidad de Newcastle, Reino Unido

Sabemos que los primeros ensayos clínicos con un nuevo medicamento o procedimiento debe proveer una *prueba de concepto*, un experimento muy cuidadoso para averiguar si una nueva idea realmente funciona. Esta reunión fue de una manera también un ensayo de una *prueba de concepto* de nuestra nueva idea: que la colaboración es la clave para del éxito de la investigación traslacional. Como todas las reuniones científicas, la nuestra tenía presentaciones y carteles sobre su programa. Pero también estamos interesados en explorar una nueva forma de trabajar para una conferencia internacional a gran escala: con un debate abierto entre los especialistas en los paneles y los muchos especialistas en la audiencia.

Creemos que este concepto hizo a la reunión exitosa de modo que en realidad muchas *barreras* entre el laboratorio y la clínica se *derribaron*, de manera que encontremos nuevas formas de llevar terapias para las enfermedades neuromusculares con rapidez a los pacientes.

Yo diría que este *experimento de prueba de concepto* dio resultados muy positivos: los 350 participantes de 26

países activamente trabajaron juntos. Muchos de ellos habían enviado sus preguntas y sus ideas por escrito antes de la conferencia, que fueron en su mayoría contestadas por los miembros del panel de las diferentes sesiones. Nuevas preguntas e ideas aparecieron y se discutieron y algunos temas importantes surgieron.

Donde quiera que vivan los pacientes deben tener la oportunidad de tomar parte en los ensayos y tener esperanza de que un fármaco u otra terapia les ayudaría inmediatamente o más tarde. Los pacientes y sus familias, donde quiera que vivan, deben tener acceso a la información más actualizada acerca de la investigación sobre su enfermedad, al mejor cuidado para hacer su vida significativa, y a medicamentos para su enfermedad cuando estén allí, incluso si cuestan mucho dinero.

Los registros deben mantenerse en el futuro para aprender todo acerca de las enfermedades, y sobre los efectos secundarios a largo plazo de nuevas terapias para que sea conocido lo que puede suceder en el futuro. Entonces, la próxima generación de fármacos puede ser desarrollada

para optimizar más y más los tratamientos. Y las autoridades de salud en todos los países deben aceptar su responsabilidad de cuidar toda su gente con enfermedades raras.

Todos estos puntos importantes sólo pueden ser llevados a casa si el espíritu de colaboración que se plasmó en esta reunión se sigue aplicando entre todos los interesados en los próximos años.

### Gracias.

Usted puede ver este informe en español en el Internet [www.duchenne-information.eu](http://www.duchenne-information.eu) así como mis informes anteriores sobre la investigación de distrofia muscular Duchenne y algunas entrevistas. Si desea recibir todos mis futuros informes en Inglés, Español o Alemán, tan pronto como estén listos, por favor envíeme su dirección de correo electrónico para su inclusión en mis listas de correo que ya contiene más de mil direcciones.

Estoy agradeciendo a TREAT-NMD y el Parent Project Muscular Dystrophy, PPMD, por el apoyo financiero. Aquí está la dirección de TREAT-NMD, nuestra red neuromuscular: Institute of Human Genetics, University of Newcastle upon Tyne, NE1 3BZ, Reino Unido, Tel.: \*44-191-241-8605, Internet: [www.treat-nmd.eu](http://www.treat-nmd.eu) .

Envíe a la mayoría de los oradores en la conferencia de Bruselas la primera versión de mi resumen de su trabajo y les pedí que se sugieren cambios y adiciones donde fuera necesario. Casi todos ellos lo hicieron, y esto significa que no debería haber ningún o muy pocos errores. Yo no habría sido capaz de escribir este informe sin esta ayuda. Todo mi agradecimiento a ellos.

Así que esta reunión sería conocida como un hito que debemos seguir. TREAT-NMD hará todo lo que pueda para ver que esto sea posible. Y agradezco a todos, que hicieron esta reunión tan exitosa, para sus continuados esfuerzos para trabajar juntos *sin barreras* hacia terapias eficaces para todos nuestros pacientes".

Estoy enviando a todos ustedes mis mejores deseos de mi lugar de trabajo de invierno en la Selva Negra de Alemania, a unos 30 kilómetros al este de Friburgo.



**Günter Scheuerbrandt, PhD.**

Im Talgrund 2

D-79874 Breitnau, Alemania

Tel.: \* 49-7652-1777

E-Mail: [gscheuerbrandt@t-online.de](mailto:gscheuerbrandt@t-online.de)

Internet: [www.duchenne-information.eu](http://www.duchenne-information.eu)

11 de marzo 2010

***Traducción al español por:***

Ricardo Rojas Caballero, Playa Rosarito 319 Fracc.

Playa Sur CP 82040 Mazatlán, Sinaloa, México

E-mail: [distrofiamuscular@yahoo.com.mx](mailto:distrofiamuscular@yahoo.com.mx)

Internet: <http://www.distrofia-mexico.org>