

Distrofia Muscular Duchenne.

Resumen de los resultados importantes de investigación entre Julio y Diciembre del 2006

La mayoría de los nuevos resultados de investigación resumidos aquí está basada en las presentaciones de la conferencia del *Parent Project* británico en Londres el 21 de Octubre, el resto viene de publicaciones y de muchos mensajes de correo electrónico personales. Algo de esta nueva información es una actualización de mi informe de la reunión anual del *Parent Project Muscular Dystrophy* estadounidense que tuvo lugar en Cincinnati/Ohio en EUA del 13 al 16 Julio del 2006. Este informe y todos los anteriores pueden ser vistos y descargados de mi pagina de Internet www.duchenne-research.com en inglés, alemán, y español. Los nombres de los investigadores mencionados aquí son usados sin sus títulos, y, como es usual dentro de la comunidad Duchenne, a menudo solamente sus nombres son usados. Casi todos son catedráticos y todos tienen un Postgrado o son Médicos o ambos.

Prueba Clínica de Omisión de Exón en Holanda: *Judith van Deutekom* dijo en Londres, que los cuatro niños con Duchenne participantes recibieron en su músculo de la espinilla, tibialis anterior, una sola inyección del AON 20-metilo, contra el exón 51, de los que ningunos efectos secundario aparecieron en todos los cuatro de ellos, y que biopsias fueron realizadas en dos niños en las que análisis fueron hechos para nueva distrofina acertada recién hecha. *Judith* dijo que estos resultados preliminares eran "prometedores", pero que no se le permite decir más.

Al final de su presentación, *Judith* dijo que debíamos ser cautelosos porque "no estamos ahí aún". Incluso si la omisión de exón funcionara en un niño, esto no quiere decir que será lo mismo en otros. Solamente un muy pequeño volumen de un músculo fue tratado, y tal tratamiento local no es lo que se necesita. Un tratamiento sistémico es necesario, el cuál alcanzaría todos músculos, y esto solamente puede ser posible por inyecciones de AONs en la circulación sanguínea. Antes de esto será probado el próximo año - entonces para omitir el exón 46 - el AON correcto y sera escogida la mejor dosificación primero. "Pero nosotros llegaremos allí", *Judith* dijo.

Prueba Clínica de Omisión de Exón en Inglaterra:

Francesco Muntoni dirige la prueba en Inglaterra, preparada por el consorcio

MDEX, en el que un AON morfolino para omitir el exón 51 será usado con inyecciones locales en el pequeño músculo del pie, extensor brevis digitorum. *Francesco* respondiendo a mis preguntas el 18 diciembre, dijo que dos de tres de los permisos están ahora ahí, y tan pronto como el tercero sea obtenido también, el primer chico será reclutado. Esto posiblemente será en la primera semana de Marzo del 2007.

Ningunos resultados preliminares serán dados a conocer. Pero después de que todos los datos sean analizados, checados, y aprobados, serán divulgados. Si la primera prueba es exitosa, el segundo estudio planeado empezará la segunda mitad del 2007. Sus resultados estarán disponibles en el 2008. Si todo avanza positivamente, la manufactura comercial de los AONs en cantidades grandes y estudios clínicos a largo plazo serán empezados.

Morfolinos entran al corazón: hasta ahora, los AONs morfolino no podían ser persuadidos a emigrar a los músculos del corazón de los ratones mdx. Ésta era una gran desventaja de los morfolinos a ser usado por los británicos, comparado con los 20-metilos, con los que los holandeses están trabajando y que causan también omisión de exón en el corazón de los ratones. En Londres, *Dominic Wells* informó que los morfolinos entraban en los corazones de los ratones si uno inyecta el agente contrastante Optison - microburbujas de albúmina

- junto con los morfolidos y dirigir al mismo tiempo ultrasonido de un aparatos de diagnóstico de ultrasonido directamente en el corazón. El ultrasonido abre poros en las membranas celulares del músculo, los morfolidos pueden entrar, y cuando el ultrasonido es detenido, los poros se cierran otra vez. La omisión de exón en los músculos esqueléticos no es alterada por este procedimiento. Tomará varios años, hasta que esta técnica simple pueda ser evaluada clínicamente en niños.

Omisión de exón con transferencia génica en Francia: Ya había informado sobre los experimentos del equipo de investigación alrededor de *Luis García* en París quién transfirió genes para los AONs con vectores AAV en los núcleos de células musculares (www.duchenne-research.com). Era conocido que, con esta técnica, era posible por al menos un año omitir el exón 23 de ratones mdx que contiene una señal de parada prematura. Luis informó en Londres que esto también trabaja ahora en perros distróficos que estaban muy enfermos y tienen aproximadamente tanto músculos como un niño pequeño. Pero tienen una mutación complicada que solamente puede ser reparada por una omisión múltiple de los exones 6, 7, y 8. ¡Y esto trabajaba de todos modos! Sin embargo, los investigadores franceses no tenían suficientes virus, cargados con el ARN-U7 y las secuencias de AON, para tratar al perro entero. Por lo tanto, bloquearon la circulación sanguínea en una pierna e inyectaron en sus venas durante 15 minutos prácticamente todos sus 100 billones (10^{14} !) de virus preparados. Algunos edemas se desarrollaron, pero eso no era malo, porque luego los virus emigraron sin problemas hacia donde se suponían debían irse. Bastante distrofina nueva y acortada apareció, que no obstante no estaba distribuida uniformemente en los músculos de la pierna, pero estaba en las cantidades similares a lo que tienen pacientes de Becker. Después de seis meses, ¡todavía estaba ahí! Ahora, una fase I de prueba clínica con chicos con Duchenne esta siendo preparada

en la que el exón 51 será omitido. Tal tratamiento con virus vectores necesitará probablemente supresión inmune.

Luis y sus colegas están tratando de combinar este tratamiento con una transferencia génica similar en la que el gen para la miostatina también será bloqueado. Esto ya fue probado en ratones, sin embargo con poco éxito, porque regeneraban sus músculos demasiado rápidamente. Ahora, está siendo probado en perros. Los resultados serán informados durante el próximo año.

Prueba clínica de transferencia génica en EUA: *Scott McPhee* de la compañía Asklepios en Carolina del Norte, que junto a *Jerry Mendell* en Columbus/Ohio ha empezado un estudio de transferencia de gen de mini- distrofina con vectores AAV, me ha dicho el 21 de diciembre que cuatro de los seis chicos participantes han recibido ahora sus inyecciones de Biostrophin en sus músculos bíceps. El cuarto chico ya pertenecía al segundo grupo de tres chicos que reciben una dosis elevada de los vectores. Ningunos efectos secundarios adversos serios han sido notados hasta ahora. A mediados del 2007 los resultados preliminares estarán disponibles y serán publicados sin demora, seguido de datos finales detallados no mucho después.

Ignorando las señales de parada prematuras con PTC124. *Richard Finkel* de la compañía. PTC en Nueva Jersey presentó en Londres los detalles de las pruebas clínicas con el compuesto PTC124. Este nuevo fármaco, cuya estructura es mantenida en secreto, puede ser administrado como tabletas. En la ahora completada fase II de prueba clínica con 26 chicos con Duchenne, que tienen codones de parada prematuros, y que recibieron una dosis de 18 miligramos/kg/día y 40 miligramos/kg /día del fármaco, y en algunos niños que recibieron la dosis más alta durante 4 semanas los análisis preliminares detectaron la esperada distrofina de largo normal. En este estudio, como en la anterior fase I de prueba, ningunos efectos secundarios aparecieron. Pe-

ro el nivel de la nueva distrofina todavía era demasiado bajo para causar un suficiente y confiable efecto terapéutico. Por lo tanto, otra fase II de prueba será empezada con 12 chicos con Duchenne, que recibirán 80 mg/kg/día de PTC124 para obtener una concentración de al menos 10 microgramos/ml en el suero sanguíneo. Los datos finales serán publicados en el 2007. Entonces estudios a largo plazo de tres a seis meses serán realizados.

Es importante entender que, si todas las pruebas clínicas siguen con éxito, esta clase de tratamiento será una cura verdadera, porque la nueva distrofina tendrá casi la longitud normal, no sería una distrofina Becker como la esperada con la técnica de omisión de exón. Por otro lado, solamente un 10 a 15 % de los chicos con Duchenne pueden beneficiarse de un tratamiento con PTC124, los cuales tienen una mutación puntual que produjo un codón de parada prematuro. Por lo tanto, es necesario saber la mutación exacta de todos los chicos con Duchenne.

Mesoangioblastos "hacen a perros lisidos correr otra vez" (tales palabras fueron usadas por los titulares de algunos periódicos). Ese era el efecto de células madre de las paredes de vasos sanguíneos, que causaron realmente las mejoras funcionales dramáticas en perros distróficos, como *Giulio Cossu* y sus compañeros de trabajo en Milán reportaron en la edición del 30 de noviembre de la revista *Nature*. Esta publicación y un comentario de *Jeffrey Chamberlain* pueden ser obtenidos por correo electrónico de mí. Giulio me escribió el 9 diciembre diciendo que me enviará, probablemente en febrero, la información sobre su trabajo del aislamiento de estas células madre del tejido de vasos sanguíneos embrionario humano. Adicionalmente, ha encontrado otro fármaco eficaz, del que no puede hablar por el momento.

Aumento de la utrofina: *Kay Davies* de la Universidad de Oxford y *Jon Tinsley* de la compañía Vastox en Oxford informó en Londres, que, el análisis automático de

aproximadamente 13,000 compuestos, ha encontrado a 100 que pueden aumentar la utrofina en cultivos de células. Algunos de ellos podían incrementar el nivel de utrofina a más del cuádruple. Estos serán optimizados posteriormente. El tratamiento de ratones mdx con el compuesto VOX 185 podía aumentar la utrofina casi exclusivamente en los músculos actuando en su promotor-A, y así obtener una mejora importante de su función.

Otros experimentos con ratones han mostrado ya que un aumento del doble o triple del nivel de la utrofina causa significativamente mejores efectos terapéuticos, y ahora se espera alcanzar un aumento de unas cinco a siete veces de utrofina con un optimizado compuesto VOX 185. A mediados del 2007, un fármaco potencial eficaz deberá estar listo que podrá ser dado como tabletas para alcanzar todos músculos. Entonces, todas las pruebas clínicas necesarias serán realizadas en los siguientes años

Inhibición de la Miostatina: La compañía Wyeth Pharmaceuticals en EUA esta ahora probando en una fase I/II de prueba clínica el anticuerpo MYO-39 en 108 pacientes con enfermedad muscular adulta, entre ellos algunos pacientes de Becker. La prueba está ahora completada, los resultados, que al parecer son positivos, serán publicados en la primavera del 2007.

La transferencia de mioblastos funciona otra vez: Al final de septiembre, *Jacques Tremblay* de Québec City en Canadá me mandó información detallada sobre sus nuevos experimentos con la técnica de transferencia de mioblastos, que debía ser llamada mejor "transferencia de células miogénicas" para distinguirla de las maquinaciones de Peter Law. En una prueba clínica con 9 pacientes con Duchenne, el pudo mostrar que en 8 pacientes hasta 26 % de nuevas fibras musculares con distrofina normal fueron creadas después de la inyección de células miogénicas normales de un pariente. Las células fueron inyectadas a una distancia de solamente 1 a 2 mm

entre sí en un área pequeña del músculo de la espinilla.

Por el momento, un segundo estudio está en marcha con inyecciones en un músculo en el que uno podría demostrar fácilmente una mejora funcional. Esta transferencia de células tendría algunas ventajas, entre ellas: La nueva distrofina tendrá una

longitud normal y estará bajo el control de sus secuencias de control normales, el efecto positivo sería a largo plazo, los problemas inmunes pueden ser evitados, la técnica podría ser combinada con una inhibición de la miostatina, y, lo más importante, también podría ayudar a pacientes con Duchenne más viejos.

Gunter Scheuerbrandt, PhD., Im Talgrund 2, Breitnau de D-79874, Alemania

He escrito este resumen el 21 y 22 de Diciembre del 2006. Aquellos que no estén en mis listas de direcciones, pero que desearían recibir todos mis informes de investigación y entrevistas futuros por correo electrónico deben por favor escribirme a mi dirección de correo electrónico: gscheuerbrandt@t-online.de.

Traducción al español por:

Ricardo Rojas Caballero

Playa Rosarito 319 Fracc. Playa Sur

CP 82040, Mazatlán, Sinaloa, México

E-mail: distrofiasmusculares@yahoo.com.mx

Web: www.distrofia-mexico.org