

## Proyecto de Terapia Génica para la enfermedad de Lesch-Nyhan

### Resumen de las investigaciones en curso en el iStem

Desde hace algunos años, tres equipos del iStem trabajan sobre la enfermedad de Lesch-Nyhan siguiendo tres líneas complementarias.

*Nota: El iStem ([www.istem.eu](http://www.istem.eu)) es el mayor laboratorio de investigación francés dedicado a las células-madre pluripotentes humanas. Es el resultado de la colaboración del l'INSERM (Instituto Nacional Francés de la Salud y de la Investigación Médica) y de AFM-Téléthon (Asociación Francesa contra las Miopatías).*

A partir de biopsias de piel de 4 pacientes que sufren la enfermedad de Lesch-Nyhan, estos equipos han conseguido cultivar células-madre pluripotentes (iPSC) y a hacerlas evolucionar como neuronas del cortex (neuronas implicadas en las funciones cognitivas e intelectuales elaboradas).

*Nota: Las células-madre pluripotentes inducidas (iPSC) pueden, en principio, originar cualquier otro tipo de célula humana, incluidos los diversos tipos de neuronas del cerebro. Naturalmente, para ello es necesario encontrar, para cada caso, la "receta" adecuada.*

Uno de los equipos del iStem tratan ahora de conseguir que las iPSC originen neuronas sintetizadoras de dopamina (*dopaminérgicas*) y que las utilicen como neurotransmisor, ya que se sabe que el disfuncionamiento de tales neuronas es una de las causas de los problemas motores en los enfermos de Parkinson, de Lesch-Nyhan, y de otras enfermedades que presentan movimientos anormales. El sistema dopaminérgico está también implicado en la aparición de automutilaciones en los enfermos de Lesch-Nyhan y en ciertas formas de autismo.

Otra línea de investigación que utiliza las iPSC de pacientes de Lesch-Nyhan intenta averiguar cómo la ausencia del gen HRPT, y por tanto del enzima del mismo nombre, afecta al desarrollo de las neuronas del cerebro y causa los síntomas neurológicos de la enfermedad (tales como la distonía y la automutilación). Esta relación entre la falta de HRPT la ausencia o disfunción de las neuronas dopaminérgicas es todavía un misterio (no así la relación entre el HPRT, el exceso de ácido úrico y los problemas renales, que es bien conocida desde hace tiempo).

El tercer equipo del iStem trabaja en un proyecto de cribado a alto caudal que permite testar *in vitro* 20.000 moléculas, con el fin de ver si alguna de ellas podría compensar la ausencia de HPRT en las células de los pacientes de Lesch-Nyhan.

En paralelo con estos trabajos, el iStem avanzaba en una reflexión sobre posibles soluciones mediante terapias génicas.

## Proyecto de Terapia Génica

El 12 de mayo 2014, el iStem ha anunciado a los representantes de la asociación francesa *Lesch-Nyhan Action* ([www.lesch-nyhan-action.org](http://www.lesch-nyhan-action.org)) que, como consecuencia de los resultados positivos de las pruebas iniciales, sus investigadores emprendían un estudio preclínico de terapia génica para la enfermedad de Lesch-Nyhan.

### Precisiones:

- *El principio de la terapia génica es la introducción de un "vector" (un virus, modificado para que no resulte nocivo) que va a aportar a ciertas células una "versión corregida" de uno o varios genes. Estos genes corregidos deberán permitir a las células generar los enzimas que faltaban.*
- *Un estudio preclínico es aquel en el cual una terapia se prueba en animales a fin de validar previamente el efecto de un tratamiento, de evaluar su comportamiento y de conocer su posible toxicidad (dosis máximas, efectos secundarios, etc.).*
- *Los ensayos clínicos, en el hombre, tienen lugar después. Con ellos, se trata de confirmar los efectos del tratamiento en enfermos voluntarios, así como de identificar todo efecto indeseable. Hecho esto, puede hacerse la demanda oficial de autorización para la salida del tratamiento al mercado.*

El objetivo de la terapia génica para la enfermedad de Lesch-Nyhan es conseguir los niveles adecuados de dopamina en el cerebro para reducir los trastornos neurológicos de la enfermedad.

Este proyecto, coordinado por Alexandra Benchoua, implique al iStem, a la Escuela Veterinaria de Nantes ([www.oniris-nantes.fr](http://www.oniris-nantes.fr)) y a una pequeña empresa inglesa de biotecnología que trabajaba ya en la terapia génica de otra enfermedad que produce movimientos anormales.

La entidad asociada de Nantes es el "*Centro de Investigación Preclínica*" (C.R.I.P. en francés). Se trata de un centro cofinanciado por la AFM y especializado en la validación preclínica en animales de terapias génicas. A su cargo, todas las manipulaciones sobre animales.

El principio del proyecto es testar para la enfermedad de Lesch-Nyhan una terapia que ya ha sido probada con cierto éxito en pacientes que sufrían otra enfermedad que produce movimientos anormales (estabilización de los niveles de dopamina y desaparición de disquinesias).

**Así, una de las grandes ventajas del proyecto es que tanto el vector como la terapia misma han sido ya validados para otra enfermedad.** Por tanto, solamente se necesita probarla para el caso específico de la enfermedad de Lesch-Nyhan (primeramente en animales, después en humanos). Ello supone una ganancia de tiempo enorme.

Aunque existe la esperanza de poder lanzar el ensayo clínico en el curso de los próximos años, es difícil anunciar, hoy por hoy, un calendario, dadas las muchas incertidumbres que persisten todavía. Primero, en lo referente a los resultados que darán los ensayos en animales, y después porque es posible que las autoridades sanitarias exijan extender

las pruebas a animales más grandes (perros o monos, por ejemplo) antes de pasar al hombre.

### **¿Cómo funciona?**

En las enfermedades de Parkinson, de Lesch-Nyhan, y en ciertas otras que presentan movimientos anormales, las neuronas dopaminérgicas están ausentes o son deficientes (por diferentes razones, propias de cada enfermedad). Como son estas neuronas las que "fabrican" la dopamina, el nivel de esta sustancia en el cerebro es muy bajo, lo que causa los diversos problemas motores observados en estas patologías. Esta ausencia de dopamina puede también ser una de las causas de las automutilaciones en el caso de la enfermedad de Lesch-Nyhan.

En el proyecto del que hablamos, se utilizará un vector (virus modificado) para introducir en las neuronas no-dopaminérgicas, genes que les permitan de producir, también ellas, dopamina. Alcanzando así los niveles adecuados de dopamina en el cerebro se espera una mejora de los síntomas neurológicos.

No se trata, pues, de sanear las neuronas dopaminérgicas deficientes, sino de conseguir que su trabajo sea realizado por otras neuronas.

#### Notas:

- *La inyección del vector en el cerebro se realiza por estereotaxia (técnica de neurocirugía que permite alcanzar zonas del cerebro de forma muy precisa). Es el mismo método que se utiliza para realizar biopsias o para implantar electrodos en el caso de estimulación cerebral profunda; se aplica también en los ensayos clínicos para la enfermedad de Sanfilippo ([www.lysogene.com](http://www.lysogene.com)).*
- *El vector se inyecta una sola vez: los genes introducidos funcionarán por ellos mismos a partir de entonces y no será preciso repetir la operación. Se trata, pues, de un tratamiento de una sola "toma".*
- *Por ello, el inconveniente es que una vez introducido el vector, no se puede interrumpir el tratamiento (al contrario que un medicamento, que puede dejar de tomarse en caso de problema). De aquí la importancia de las pruebas con animales para comprender bien todas las consecuencias del tratamiento.*

En un principio, el iStem a testado el vector en cajas de Petri en las neuronas no-dopaminérgicas que habían generado a partir de las células-madre (iPSC) normales o Lesch-Nyhan (por lo tanto, con o sin HPRT). De esta manera, han podido comprobar que, en todos los casos, independientemente de la presencia o ausencia de HPRT, las enzimas se producían y se sintetizaba la dopamina. Estas pruebas *in vitro* autorizan a pasar a las pruebas con animales.

Ahora bien, para llevar a cabo el estudio periclínico había que encontrar el animal adecuado.

Los ratones transgénicos sin gen HPRT son un modelo "genético" de la enfermedad de Lesch-Nyhan utilizado corrientemente. No obstante, a pesar de carecer de gen HPRT (y del correspondiente enzima), estos ratones no presentan los síntomas típicos de la

enfermedad (automutilación y distonía), lo que los hace inadecuados para el ensayo preclínico propuesto por el iStem. En particular, la imaginería y las autopsias muestran en ellos una reducción de la dopamina muy débil, cuando dicha reducción es mucho más fuerte en los pacientes humanos de Lesch-Nyhan.

Por esta razón, el iStem ha pensado utilizar, en lugar de estos ratones, ratas con el código genético no modificado pero en las que se han suprimido las neuronas dopaminérgicas inyectándoles cierta droga a los tres días de nacidas. Crecen entonces sin dopamina o con muy poca, como los niños enfermos de Lesch-Nyhan. Estas ratas, al llegar a una cierta edad, sí que presentan síntomas similares a los mencionados (problemas motores y automutilación). Se trata no ya de un modelo "genético" sino "fenotípico" de la enfermedad de Lesch-Nyhan.

Estas ratas han sido reconocidas y validadas por las autoridades como modelo para los ensayos sobre la enfermedad de Lesch-Nyhan y son las mismas que han servido para los ensayos preclínicos del Ecopipam (Dr Richard Chipkin, del laboratorio Psyadon Pharmaceuticals).

A lo largo del proyecto, el iStem ensayará la inyección del vector en ratas de distintas edades y estudiará los resultados durante varios meses lo que permitirá ver el efecto del tratamiento en función de la edad del "paciente" y la duración de los efectos del mismo. A continuación, las ratas serán sacrificadas y se medirá, tras la autopsia, la tasa de dopamina (esta medida es difícil de realizar mediante imaginería dado el pequeño tamaño de los animales).

La manipulación piloto, con un número reducido de animales, tendrá lugar en septiembre/octubre 2014. Después, trabajando con grupos más grandes, se podrán estudiar las diversas posibilidades (por ejemplo, tratamientos a diferentes edades).

### **Otras observaciones**

Como complemento de las pruebas preclínicas, sería muy conveniente llevar a cabo un estudio de imaginería (IRM o, mejor, PET Scan) con niños. Pero existe la dificultad, sobre todo para el PET Scan, de la necesidad de anestesia general y de inyección de un producto radiactivo, lo que será difícilmente autorizado por el Comité de Protección de la Persona si no es en el marco de un ensayo clínico (entonces, el riesgo resulta compensado por los posibles beneficios).

Por otra parte, tanto para un estudio de imaginería como para un eventual ensayo clínico, será necesario encontrar un neurólogo motivado dispuesto a implicarse en el proyecto.

- Fin del informe -