



Nº1

AVANCES EN LA INVESTIGACIÓN

Avances en la atrofia muscular espinal proximal asociada al gen SMN1

- > Atrofias musculares espinales infantiles (AME infantil)
- > AME de tipo I y II (SMA1 y SMA2)
- > Enfermedad de Werdnig-Hoffmann
- > AME de tipo III (SMA3)
- > Enfermedad de Kugelberg-Welander
- > AME de tipo IV (SMA4), atrofia muscular espinal proximal, forma adulta
- > AME (Atrofia muscular espinal)
- > SMA (*Spinal Muscular Atrophy*)

JUNIO 2012 (traducción 2013)

Este documento presenta el estado actual de los conocimientos científicos sobre la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1. Se trata de una versión actualizada con ocasión de las Jornadas de las Familias organizadas en 2012 por la AFM-Téléthon (Asociación francesa contra las Myopatías) que, en esta edición, se dedicaron a la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1. Estos textos, destinados a las personas con una enfermedad neuromuscular y a sus familias, están disponibles, en francés, en la web de la AFM-Téléthon (texto actualizado recientemente 2013 con posterioridad a esta traducción http://www.afm-telathon.fr/sites/default/files/afmteleton_avancees.asp_bat_0.pdf). Estos documentos no pueden, bajo ningún concepto, sustituir la opinión de un especialista, aunque sí pueden facilitar el diálogo con el equipo asistencial





ÍNDICE

Redacción texto original

Myoinfo,
Departamento de información sobre enfermedades neuromusculares de la AFM-Téléthon, Évry (Francia)

Supervisión texto original

Prof.^a Judith Melki
INSERM U-788 y Universidad de París XI, Hospital Bicêtre, París (Francia)

Carole André
Dirección Científica de la l'AFM-Téléthon, Évry (Francia)

Traducción al español (2013)

Carolina Cordal Rodríguez & Elena Sánchez Trigo
(Universidade de Vigo), Vigo (España)

Revisión experta

Dra. Carmen Navarro Fernández-Balbuena (Hospital del Meixoeiro), Vigo (España)

Coordinación ASEM Galicia, Vigo para la Federación ASEM, Barcelona (España)

Editada en Barcelona por Federación ASEM 2013

ISSN 2340-7832
Serie: Saber y entender.
Avances en investigación.

¿Qué es la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1? 3

¿Cuál es la causa de la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1?..... 4

¿Cuál es el estado actual de la investigación? 4

La crucial importancia del gen SMN2 5

El papel de la proteína SMN en la célula 5

El papel de la proteína SMN en la unión muscular 6

Lo que se desconoce de la enfermedad 6

Registros para conocer mejor la enfermedad..... 7

La base de datos UMD-SMN1 France 7

Comprender los factores genéticos que están en el origen de los diferentes tipos de atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1..... 7

Correlación genotipo/fenotipo 7

El gen SMN2..... 7

El gen PLS3 que codifica la plastina 3..... 8

Desarrollar las herramientas necesarias para la investigación..... 8

Las células madre pluripotenciales inducidas (células iPS) 8

Desarrollar las herramientas necesarias para la evaluación 9

Conocer mejor el papel de la proteína SMN..... 9

Las pistas terapéuticas en la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1 9

Terapia génica: la transferencia del gen SMN1 10

Modificar el proceso de corte y empalme del ARN mensajero de SMN2 . 10

Los oligonucleótidos antisentido 10

La molécula PTK-SMA1 12

El triptólido 12

Aumentar la cantidad de la proteína SMN 12

Resultados negativos del ácido valproico 13

Los inhibidores de las histonas deacetilasas 14

La prolactina 14

La RG3039..... 14

Actuar sobre las rutas de señalización alteradas en la AME: el fasudil... 15

Protección de la motoneurona en ensayos con seres humanos 15

El riluzol 15

La oleoxime 15

* * *

¿Qué es la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1?

La atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1 (AME) está catalogada como una enfermedad rara. Conlleva una debilidad muscular de gravedad variable. Los síntomas pueden aparecer a cualquier edad, pero en la mayoría de los casos lo hacen en la infancia.

Se caracteriza por una degeneración de las células nerviosas, las motoneuronas, que controlan el movimiento de los músculos. Las motoneuronas afectadas por la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1 se sitúan en la parte anterior (conocida como «asta anterior») de la médula espinal y en la parte inferior del cerebro (tronco cerebral).

La atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1 se caracteriza por una debilidad muscular que predomina en los músculos esqueléticos (pelvis y hombros) y del tronco. Su evolución depende de la persona y del tipo de enfermedad.

Existen formas de atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1 que se manifiestan desde el nacimiento, otras lo hacen durante la infancia o incluso en la edad adulta. Según la edad en la que aparecen las primeras dificultades y la manera en la que evolucionan, los médicos clasifican las formas de atrofia muscular espinal proximal asociada al gen SMN1 en tres grupos.

El tipo I comienza precozmente, antes de los tres meses de edad, y en algunas ocasiones desde el mismo nacimiento. El niño nunca llega a sentarse de manera autónoma.

El tipo II aparece un poco más tarde, después de los seis meses. El niño puede sentarse pero no caminar.

La denominación de enfermedad de Werdnig-Hoffmann engloba las atrofiaciones musculares espinales proximales de tipo I y II.

El tipo III, también conocida como enfermedad de Kugelberg-Welander, comienza a manifestarse después de los 18 meses y, en general, antes de los 6 años.

Recientemente, al facilitarse el acceso al test genético, se han detectado algunos tipos de AME de aparición mucho más tardía, a veces incluso en la edad adulta. El tipo IV no es stricto sensu una atrofia muscular espinal infantil. El término AME infantil, es más restrictivo, no engloba totalmente al término inglés SMA (Spinal Muscular Atrophy), que es más amplio y no hace referencia a una franja de edad en particular.

Con los tipos III y IV, el niño podrá caminar y mantener esta capacidad durante muchos años.

*Una **enfermedad rara** es aquella que afecta a una de cada 2000 personas. Las enfermedades raras en Francia son objeto de una política de salud pública común en los ámbitos de la investigación, de la información y del tratamiento.*

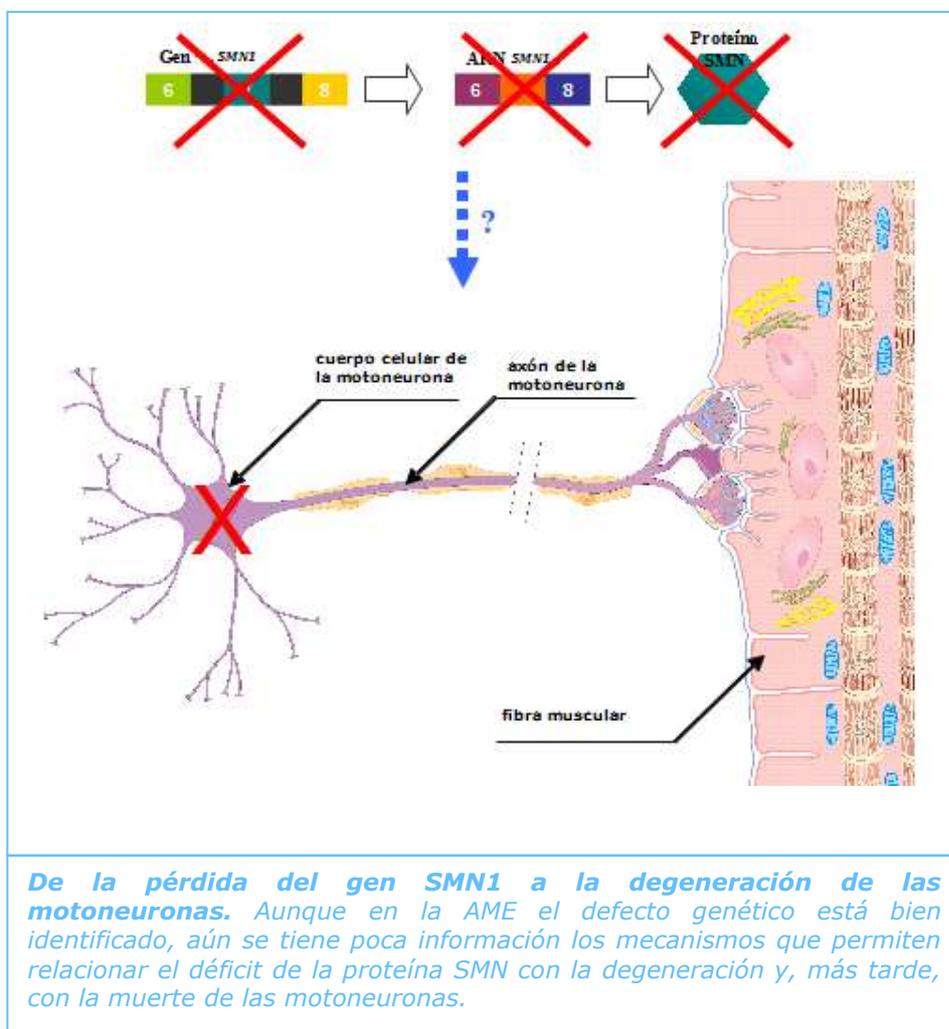
*Una **motoneurona** es una neurona (célula nerviosa) que transmite/conduce los órdenes motoras (bajo la forma de impulso nervioso) del cerebro y de la médula espinal hacia los músculos que efectúan el movimiento que se le ha ordenado. Se diferencian dos tipos de motoneuronas: centrales y periféricas. Las motoneuronas centrales, situadas en el cerebro, integran y conducen los impulsos nerviosos del cerebro y del cerebelo hacia la médula espinal. Las motoneuronas periféricas reciben el impulso nervioso de las motoneuronas centrales y las conducen hacia los músculos.*

¿Cuál es la causa de la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1?

Las **enfermedades** de origen **genético** son enfermedades provocadas por anomalías del ADN, es decir, de la información que determina el funcionamiento biológico de nuestro organismo. Esta información está presente en nuestras células en forma de cromosomas. La heredamos de nuestros padres y nuestros hijos la heredan de nosotros. Por ello, en muchas ocasiones, las enfermedades genéticas son familiares, es decir, puede haber diversos miembros de una misma familia con la enfermedad genética.

La atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1 (AME) es una enfermedad de origen genético provocada por anomalías genéticas en el gen SMN1. Este gen se localiza en el brazo largo del cromosoma 5 y codifica la proteína de supervivencia de las motoneuronas, SMN (*Survival Motor Neuron*).

Estas anomalías o incluso la pérdida total del gen SMN1 conllevan un déficit de la proteína SMN que se traduce en una alteración funcional de las motoneuronas encargadas de transmitir la orden de movimiento hasta los músculos. Los músculos se mueven cada vez menos, provocando una disminución de la actividad de las fibras musculares que se manifiesta en una falta de fuerza y de tono muscular (atrofia muscular).



¿Cuál es el estado actual de la investigación?

Cada año, el congreso internacional anual de la asociación estadounidense Families of SMA (FSMA) reúne a las familias de las personas con AME y al conjunto de la comunidad científica que estudia esta patología. En su 15.^a edición, que tuvo lugar en Florida (Estados Unidos) del 23 al 25 de junio de 2011, se presentaron los grandes avances y los trabajos principales que se están llevando a

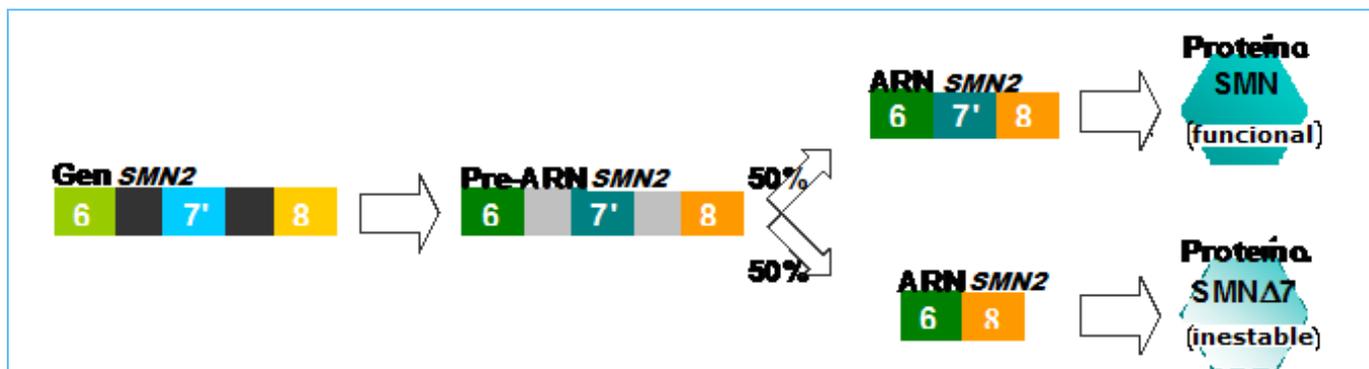
cabo en relación con esta enfermedad. En particular, se expusieron varios estudios realizados en ratones que confirmaron la importancia de la unión neuromuscular en esta enfermedad, se debatió sobre el papel de la proteína plastina 3 y, por ejemplo, se presentaron algunos de los efectos positivos de la prolactina en ratones.

La crucial importancia del gen SMN2

En todas las personas con AME y en el 95% de la población en general, junto al gen *SMN1*, existe otro gen, el *SMN2* con una secuencia casi idéntica. La diferencia crucial entre los dos genes se encuentra en un nucleótido (una «letra» del mensaje genético) situado en una porción del gen denominada exón 7.

Esta variación tiene consecuencias muy importantes en la producción de la proteína SMN. Así, mientras que el gen *SMN1* permite la síntesis de la proteína SMN completa (funcional y en cantidades suficientes), el gen *SMN2* produce, por una parte, una proteína SMN más corta, inestable, no funcional y rápidamente destruible y, por otra, una proteína SMN normal, idéntica a la producida por el gen *SMN1*. El número de copias del gen *SMN2* varía de una persona a otra, de 1 a 5.

*Los genes se estructuran en una alternancia de regiones codificantes, los **exones**, y de regiones no codificantes, los **intrones**. Los exones son porciones del gen utiliza la maquinaria celular como manual de instrucciones para la fabricación de la proteína.*



El gen *SMN2*, constituido por exones (en color) e intrones (en negro), se transcribe en ARN, que solo contiene exones. Así, produce dos tipos de proteínas:

- una proteína inestable, *SMN Δ 7*, a la que le falta el exón 7;
- una proteína SMN completamente funcional.

*En las atrofias musculares espinales proximales, la cantidad de SMN funcional que se produce es insuficiente para compensar en su totalidad la pérdida del gen *SMN1*.*

En general, en el tipo I, no hay ninguna copia suplementaria del gen *SMN2* o tan solo una. Por el contrario, en la AME de tipo III, suele haber de cuatro o cinco copias del gen *SMN2*. Sin embargo, esta regla no se cumple en un número importante de casos (el 20% de personas con el tipo I tienen, por ejemplo, dos copias del gen *SMN2*).

En 2010, un equipo francés descubrió un tipo poco común del gen *SMN2* asociado a una forma menos grave de AME. Este tipo de gen *SMN2* (variante) favorece la producción de una proteína SMN completa y funcional y está asociado a formas menos graves de la enfermedad. Dicho descubrimiento confirma el interés de la estrategia terapéutica enfocada en «corregir» el gen *SMN2* en las personas con AME.

El papel de la proteína SMN en la célula

La proteína SMN está presente en todas las células del organismo. Interviene en la fabricación de proteínas, y más concretamente, en la maduración de los ARN mensajeros (proceso de corte y

*El **axón** es la prolongación de la neurona que permite conducir el impulso nervioso hasta otra neurona, hasta un músculo o hasta un órgano.*



*La **unión neuromuscular** es la zona de comunicación entre el nervio que ordena y el músculo que actúa.*

*Las **vesículas sinápticas** son pequeños sacos delimitados por una membrana, ubicados en las terminaciones nerviosas. Transportan una sustancia química que «conduce» el impulso nervioso de una célula nerviosa a otra o de una célula nerviosa a una célula muscular.*

*Los **registros de pacientes** son una recopilación centralizada de datos médicos sobre personas con una misma enfermedad. Los médicos que tratan a los enfermos proporcionan estos datos con su autorización y manteniendo el secreto profesional. Los registros permiten conocer mejor la evolución y distribución de la enfermedad así como la forma de mejorar su tratamiento.*

empalme; *splicing*, en inglés). Los ARN mensajeros son copias de los genes que contienen las instrucciones para producir las proteínas. La proteína SMN forma, con otras proteínas, complejos moleculares localizados en los núcleos de las células, los gems. Estos desempeñan un papel imprescindible en el metabolismo complejo de los ARN.

En la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen *SMN1* (AME), hay una reducción del número de gems. La proteína SMN también interviene en el transporte de moléculas e incluso de organelas a lo largo del axón. Este transporte se efectúa en ambos sentidos entre el cuerpo celular de la motoneurona y la unión neuromuscular.

El papel de la proteína SMN en la unión muscular

El estudio de los modelos celulares y animales parece poner de manifiesto que primero se produce una pérdida o defecto de las uniones neuromusculares, y que, en un segundo momento, sería la causa de la muerte de las motoneuronas. En los diferentes modelos de ratón de AME, los signos que revelan la inmadurez de las uniones neuromusculares aparecen muy pronto.

En dos estudios publicados en 2011, se confirmó el papel de la proteína SMN en la organización de las uniones neuromusculares. El primer estudio demostró que la proteína SMN era esencial para la maduración de las terminaciones nerviosas y para el transporte de las vesículas sinápticas. El segundo evidenció varios defectos en la parte nerviosa y en la parte muscular de la unión neuromuscular, así como una afectación primitiva del músculo en los modelos de ratón de AME (microscopia confocal).

Lo que se desconoce de la enfermedad

Después de más de un siglo tras las primeras descripciones de la atrofia muscular espinal proximal y a pesar de los numerosos trabajos realizados, tenemos que constatar que aún no se conoce su historia natural con precisión. Existen numerosas variaciones individuales entre los pacientes con atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen *SMN1* (AME), sobre todo en relación a la evolución de las dificultades motrices. Estas variaciones solo se explican, en parte, a nivel molecular y es muy probable que influyan otros factores genéticos y ambientales.

Tampoco hay explicaciones totalmente satisfactorias referidas a la extrema selectividad de la muerte de las motoneuronas. El hecho de que la proteína SMN esté presente en todos los tejidos del cuerpo humano contrasta especialmente con la desaparición casi exclusiva de las motoneuronas de la médula espinal y del tronco cerebral. El mecanismo de desaparición de la motoneurona todavía no está claro. Algunos autores plantean la hipótesis de que podría deberse a un factor tóxico transmitido por el músculo en dirección a la motoneurona.

Por último, todavía es difícil establecer cuáles son los mejores criterios clínicos para estudiar la eficacia de la terapia en la AME. Los ensayos terapéuticos se realizan en un contexto en el que existe una gran diversidad de tratamientos médicos y quirúrgicos en función de los equipos y de los países. Esta diversidad puede dificultar la interpretación de los resultados de un estudio a otro.

Registros para conocer mejor la enfermedad

En materia de investigación clínica, la creación de registros de pacientes para pensar a todas las personas que padecen la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen *SMN1* ayuda a conocer en mayor medida la frecuencia (incidencia, prevalencia) y, sobre todo, la historia natural de este tipo de enfermedad neuromuscular. Asimismo, facilita el poder establecer grupos de personas voluntarias para los ensayos clínicos.

La base de datos UMD-SMN1 France

En febrero de 2011, se creó la base de datos UMD-SMN1 France, financiada por la asociación AFM-Téléthon, que integra a laboratorios franceses de diagnóstico molecular y a centros de referencia de enfermedades neuromusculares. La recopilación de todos los datos moleculares y clínicos posibles permitirá: entender mejor las mutaciones del gen *SMN1*, conocer la evolución de la enfermedad a largo plazo, establecer las correlaciones genotipo/fenotipo e identificar a pacientes para ensayos clínicos o investigaciones científicas.

La base de datos UMD-SMN1 France en la práctica

- Para contribuir a esta base de datos, el paciente y el médico especialista deben firmar un formulario de consentimiento. Este último lo remitirá al gestor de la base junto a su historial y datos personales.
- El formulario de consentimiento está disponible en este sitio web: [WEB www.umd.be/SMN1/](http://www.umd.be/SMN1/)
- Todos los datos (médicos, clínicos y genéticos) son estrictamente confidenciales y anónimos.
- En todo momento, los pacientes pueden acceder, rectificar o pedir la retirada de sus datos del banco.

Comprender los factores genéticos que están en el origen de los diferentes tipos de atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1

De manera general, la causa de todos los tipos de atrofia muscular espinal proximal es la pérdida del gen *SMN1* y, por consiguiente, un déficit de la proteína SMN. No obstante las manifestaciones de la enfermedad varían mucho dependiendo de los tipos y de los pacientes, lo que sugiere la existencia de otros genes, denominados «genes modificadores», así como de otros factores que pueden tener influencia en la expresión de la enfermedad.

Correlación genotipo/fenotipo

Para poder determinar mejor la correlación genotipo/fenotipo en la AME, un equipo francés estudió el gen *SMN2* en un grupo de 103 pacientes con esta enfermedad. Los resultados, publicados en 2011 indican, por una parte, una fuerte correlación entre el número de copias del gen *SMN2* y la duración de la vida con AME de tipo I y, por otra, la pérdida de la marcha con AME de tipo III. Por el contrario, no hay una diferencia significativa en la afectación del tronco cerebral. Aunque el número de copias de *SMN2* puede proporcionar ciertas indicaciones sobre el pronóstico, las diferencias que hay en las manifestaciones de la enfermedad dependiendo de las personas, sugieren la existencia de modificadores genéticos aún no identificados.

El gen SMN2

Hasta 2008, solo se conocía un único modificador, el gen *SMN2*, que puede estar presente en varias copias de nuestro ADN.

En medicina, la **historia natural** de una enfermedad consiste en la descripción de sus diferentes manifestaciones así como su evolución a lo largo del tiempo sin ningún tipo de tratamiento (fármacos, kinesiterapia, cirugía, etc.).

Los estudios sobre las **correlaciones genotipo/fenotipo** buscan la existencia de lazos entre las características genéticas, el genotipo, y las características que tienen una expresión externa, el fenotipo (talla, color y forma de los ojos, color del cabello, manifestación de una enfermedad...). De este modo también se puede identificar una relación más o menos estrecha entre la presencia de una anomalía genética de un tipo u otro y de las manifestaciones de un tipo u otro de una determinada enfermedad genética.

La **expresión de los genes** es la cantidad de proteína fabricada a partir de este gen. Un gen cuya expresión es muy alta produce una gran cantidad de proteínas, mientras que un gen cuya expresión es baja produce poca cantidad de proteína.

La **metilación** es una modificación bioquímica del ADN, que modifica el nivel de expresión de los genes. Una débil metilación (hipometilación) se traduce a menudo en una alta expresión del gen y, por lo tanto, en una producción elevada de proteína. Frente a esto, un alto nivel de metilación (hipermetilación) inactiva al gen, lo que inhibe la síntesis de la proteína.



Generalmente, cuantas más copias del gen *SMN2* tiene una persona con AME, menor será la gravedad de la enfermedad.

Existen, sin embargo, algunas excepciones a esta regla que se pueden explicar de diferentes maneras. La expresión del gen *SMN2* parece estar regulada como la de los otros genes, por un mecanismo químico denominado metilación. Una débil metilación (hipometilación) del gen *SMN2* provoca una importante expresión del mismo y, por tanto, una fuerte producción de la proteína SMN. Una alta metilación (hipermetilación) del gen *SMN2* inhibe su expresión y, por consiguiente, disminuye la síntesis de la proteína SMN. Así, con el mismo número de copias del gen *SMN2*, es posible tener una cantidad más o menos importante de proteína SMN y, en consecuencia, presentar una forma más o menos grave de la enfermedad.

Un modelo celular permite estudiar los mecanismos biológicos de una enfermedad a partir de células cultivadas en laboratorio que reproducen las características de la misma. Estas células pueden provenir de personas que tienen la enfermedad. Asimismo, un modelo celular permite evaluar los efectos de un tratamiento potencial.

Un modelo animal es un animal que reproduce las características de la enfermedad (tanto genéticas como clínicas), lo que permite el estudio de los mecanismos de la misma o el ensayo de los posibles tratamientos.

Las células madre poseen tanto la capacidad de multiplicarse por igual para producir nuevas células madre (autorrenovación) como de producir, en unas condiciones determinadas, células diferenciadas (células sanguíneas, células hepáticas, células musculares, etc.).

El gen *PLS3* que codifica la plastina 3

En 2008, un equipo alemán demostró la existencia de otro gen modificador en la AME. El gen *PLS3*, localizado en el cromosoma X y que codifica la plastina 3, una proteína que regula el crecimiento y la longitud de las motoneuronas. Los investigadores estudiaron a mujeres asintomáticas, es decir, sin ninguna manifestación de atrofia muscular espinal proximal, pero con las mismas anomalías genéticas que sus hermanos con AME. Descubrieron en ellas una sobreexpresión del gen *PLS3*.

Esto no ha sido confirmado en 2011 por otro equipo que también estudió la expresión de la plastina 3 en familias con AME. No detectaron ninguna diferencia en la expresión de la plastina 3 entre hermanos y hermanas que presentaban signos clínicos diferentes. Por tanto, el papel de la plastina 3 como gen modificador sigue sin estar confirmado.

Desarrollar las herramientas necesarias para la investigación

Durante estos últimos años, se han desarrollado muchos modelos animales con AME. Tan solo en casos aislados los animales tienen atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen *SMN1*, y solo los humanos disponen de más de un gen *SMN* (*SMN1* y *SMN2*). Por lo tanto, esta situación requirió la creación en los laboratorios de modelos animales que reprodujesen las características de la enfermedad. En la actualidad, disponemos de modelos en roedores (ratones), en insectos (*Drosophila*) y en peces (pez cebra), por citar solo los estudiados con más frecuencia.

Los investigadores emplean estos modelos, a través del proceso denominado transgénesis, para estudiar las funciones respectivas de los genes *SMN1* y *SMN2* y, sobre todo, para intentar compensar la ausencia del gen *SMN1* aumentando la cantidad de proteína SMN producida a partir del gen *SMN2*.

Las células madre pluripotenciales inducidas (células iPS)

Antes de emplear moléculas en el ser humano, hay que comprobar que no son tóxicas. Para ello, deben realizarse pruebas en laboratorio (*in vitro*) en modelos celulares. Las células iPS, desarrolladas principalmente por el prestigioso laboratorio francés I-Stem, son células madre pluripotenciales inducidas generalmente a partir de los fibroblastos de la piel. Estas células «indiferenciadas» presentan unas características y un potencial similar al de las células madre embrionarias. Pueden autorenovarse indefinidamente en cultivo y especializarse, en función de las necesidades, en cualquier otra célula especializada del organismo.

El desarrollo de motoneuronas a partir de estas células permite disponer de una herramienta adaptada para las pruebas *in vitro* de fármacos, previas a los ensayos con modelos de ratón con AME y a los ensayos preclínicos en humanos.

En 2011, un grupo de investigadores consiguió poner a punto un medio de cultivo (cóctel de factores de transcripción) que acelera el desarrollo de las motoneuronas a partir de células madre pluripotenciales humanas (en 11 días).

Desarrollar las herramientas necesarias para la evaluación

El desarrollo de las herramientas de evaluación es necesario no solo para seguir la evolución de la enfermedad, sino también para poder evaluar la eficacia de las terapias. Con el paso del tiempo, el diagnóstico por imagen del músculo se convirtió en una herramienta indispensable, tanto para el diagnóstico de numerosas enfermedades neuromusculares como por ser un criterio de evaluación en ensayos clínicos. La imagen por resonancia magnética (IRM) se impuso en pocos años como herramienta de referencia por la calidad de su resolución y por su relativa facilidad de uso.

En Francia, un estudio patrocinado por la AFM-Téléthon está evaluando, en el momento de redacción de este texto, la factibilidad del estudio de la médula espinal mediante imágenes potenciadas en difusión y generadas con alta resolución angular en 19 pacientes con AME.

Conocer mejor el papel de la proteína SMN

Para comprender mejor el papel de la proteína SMN, varios laboratorios están investigando proteínas asociadas a la SMN. La proteína SMN interactúa con la gemina 2 en los gems del núcleo y en las vesículas axonales. Este complejo estimula la proteína Rad51, implicada en la reparación del ADN, lo que sugiere que SMN tiene otra función además de la de intervenir en los mecanismos de detección del proceso de corte y empalme.

En 2011 los investigadores han descubierto que la SMN interactúa en los axones con la HuD, una proteína específica neuronal. La identificación de nuevas interacciones de la SMN abre una vía importante de investigación que permitirá precisar las funciones celulares implicadas en la enfermedad.

Las pistas terapéuticas en la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones del gen SMN1

En diciembre de 2011, se publicó una actualización de la revisión realizada por Cochrane en 2009 sobre ensayos clínicos en la AME de tipo I. No se realizó ningún otro ensayo clínico desde la versión de 2009. Hoy en día, ningún fármaco ha probado ser realmente eficaz tratando la AME de tipo I.

Del mismo modo, en diciembre de 2011, se actualizó la revisión de Cochrane de 2009 con ensayos en la AME de tipo II o III. En esta actualización se incluyeron dos ensayos clínicos en la AME de tipo II que se añaden así a los cuatro ya descritos en 2009. Ningún fármaco (creatina, fenilbutirato de sodio, gabapentina, o TRH (*Thyrotropin Releasing Hormon*)) ha probado ser realmente eficaz en el tratamiento de la AME de tipo II o III.

Sin embargo, se exploraron numerosas pistas terapéuticas en la atrofia muscular espinal proximal asociada a las mutaciones de gen *SMN1* (AME). Algunas, como la transferencia del gen *SMN1*, la modificación del ARN mensajero de *SMN2* o la acción en las vías de

Las revisiones sistemáticas y periódicas realizadas por Cochrane [N. de las Tr: organización internacional, independiente y sin ánimo de lucro, con base en el Reino Unido] tienen como finalidad identificar los estudios existentes sobre prácticas eficaces, aquellas que no funcionan y también las que pueden ser nefastas. Recopila y analiza de forma exhaustiva la literatura médica y científica en relación a un tema determinado. El proceso sigue una metodología rigurosa: búsqueda de estudios publicados, selección de aquellos que son metodológicamente válidos y análisis de los datos combinados (metaanálisis). El resultado de este metaanálisis constituye una referencia para los expertos en la materia.

Un vector es un sistema que permite insertar los genes medicamento en las células de un organismo. Para que el gen medicamento cumpla su cometido debe acceder al núcleo de la célula donde se sitúa el ADN. Por lo tanto, el gen medicamento tiene que atravesar numerosas barreras biológicas para acceder, en primer lugar, a la célula, (atravesando vasos sanguíneos, tejido conjuntivo); después, al interior de la célula, (atravesando la membrana plasmática que delimita la célula) y, finalmente, al núcleo (atravesando la membrana nuclear). Para ello, el gen medicamento se introduce en un vector que facilita salvar de todas estas barreras. El vector puede ser viral o no viral (plásmidos, vectores lipídicos...).



señalización anormales en la AME solo se han estudiado hasta el momento en modelos celulares y/o en animales (estadio preclínico).

La modificación del ARN mensajero de *SMN2* por oligonucleótidos antisentido se empieza a estudiar en seres humanos (estadio clínico). Otras pistas, como el aumento de la producción de la proteína SMN o la protección de la motoneurona, ya están siendo evaluadas en seres humanos.

Terapia génica: la transferencia del gen *SMN1*

El virus adeno-asociado (AAV por sus siglas en inglés de adeno-associated virus) es un virus pequeño con ADN que puede infectar al ser humano. No obstante, no provoca una enfermedad en el paciente, tan solo conlleva una respuesta inmunitaria de defensa moderada. Ya en el interior de las células, el AAV, como todos los virus, incorpora sus genes al conjunto de genes de la célula infectada. Se emplea en la industria genética como vector para la terapia génica.

Tan solo desde hace algunos años, se ha conseguido llegar a las motoneuronas con la terapia génica mediante el desarrollo de nuevos vectores virales (como los AVV) capaces de llegar a la médula espinal en el ratón y el gato.

La terapia génica consiste en insertar en el seno de las motoneuronas enfermas un gen «medicamento» gracias a un transmisor (vector). Los investigadores utilizan la capacidad del virus para penetrar en las células y así introducir el gen «medicamento» en el interior de las mismas. Para ello, extraen una parte del virus que causa la enfermedad y la remplazan por el gen «medicamento», el gen *SMN1* en el caso de la AME.

En 2010, un equipo francés del Institut de Myologie (París), financiado por la asociación AFM-Téléthon, transfirió varios vectores virales AAV que incluían una secuencia *SMN1* humana «optimizada» en ratones con una forma grave de AME de un día de vida. Tan solo con una inyección intravenosa este tratamiento de terapia génica mejora considerablemente la esperanza de vida de estos ratones, que pasa de 13 a 200 días. También impide la muerte de las motoneuronas, corrige completamente la función motriz en su totalidad y reduce la pérdida de peso de los ratones tratados.

En 2012, un equipo probó la eficacia de la transferencia del gen *SMN1* con un AAV9 en ratones de laboratorio con una forma grave de AME. Cuando nacen, los ratones de laboratorio con una forma grave de atrofia muscular espinal proximal ya presentan síntomas propios de la enfermedad y viven de 4 a 6 días. La administración del AAV9 se realizó cuando tenían un día de vida, y por inyección intracerebral o inyección intravenosa. En los dos casos, la tasa de la proteína SMN aumentó significativamente en el cerebro y en la médula espinal. La supervivencia de los ratones también aumentó significativamente en relación a un grupo no tratado, con un aumento de la supervivencia mayor en los casos de inyección intracerebral.

El proceso de corte y empalme es una etapa en la que se fabrican proteínas. En la primera etapa, denominada transcripción, el mensaje del gen «se transcribe» en ARN mensajero (semejante a una fotocopia de la región de ADN que tiene el gen). El proceso de corte y empalme es la segunda etapa en la que el ARN mensajero «se ensambla»: algunas partes se cortan y los fragmentos restantes se combinan en una sola cadena de ARN mensajero maduro que contiene solo la información necesaria para orientar la síntesis de la proteína.

Modificar el proceso de corte y empalme del ARN mensajero de *SMN2*

El objetivo de llevar a cabo una estrategia terapéutica en el tratamiento de la AME es «corregir» el ARN mensajero *SMN2* para que fabrique, como hace el gen *SMN1*, una proteína SMN completa y funcional en una mayor proporción.

Los oligonucleótidos antisentido

Un oligonucleótido antisentido es un fragmento de ARN, generalmente sintetizado en el laboratorio, que puede unirse específicamente con un ARN mensajero natural: la secuencia nucleotídica (su fórmula química) del ARN antisentido es complementaria a la del ARN mensajero diana. Asimismo, puede intervenir en el proceso de corte y empalme del ARN mensajero

modificándolo (salto o incorporación del/los exón/es, alteración de la expresión de un gen que inhibe la síntesis de la proteína correspondiente, etc.).

Varios trabajos presentados en el congreso Myology 2011 organizado por la asociación AFM-Téléthon mostraron que una sola inyección intracerebral de un oligonucleótido antisentido capaz de reintroducir el exón 7 en el ARN mensajero de *SMN2* resulta eficaz en un modelo de ratón con una forma grave de AME. Los efectos son visibles tanto en la producción de proteína SMN (de 4 a 5 veces más alta) como en el tamaño y fuerza de las fibras musculares, en el número de motoneuronas en la médula espinal y en la estructura de las uniones neuromusculares.

Otro estudio analizó los efectos de la inyección intracerebral de un oligonucleótido antisentido que dirige el proceso de corte y empalme del gen *SMN2* en modelos de ratón de AME. Si la inyección se administra cuando nacen, se constata una clara mejoría de la actividad motora y una prolongación de la supervivencia de los ratones entre 15 y 100 días. La inyección intracerebral actúa aumentando a la vez la incorporación del exón 7 de *SMN2* y los niveles de proteína SMN en el cerebro y médula espinal. Por el contrario, los efectos resultan imperceptibles en la periferia. La inyección en el sistema nervioso central es menos eficaz si se realiza en un estadio más tardío de desarrollo. La supervivencia es menor con una inyección en la periferia en un estadio más tardío de desarrollo.

La inyección del oligonucleótido antisentido ASO-10-27 (que favorece la inclusión del exón 7 en el interior del gen *SMN2*) en el cerebro de un modelo de ratón con la forma grave de AME mejoró los síntomas del animal.

En 2011, un estudio comparó la eficacia de la inyección de ASO-10-27 en el cerebro con la inyección sistémica (es decir, por vía general a todo el organismo). La inyección sistémica de ASO-10-27 resultó ser más eficaz para la supervivencia de los ratones que la inyección en el cerebro. Además, se restauraron los niveles de IFG1 que están disminuidos en los ratones de AME por la acción del hígado.

Estos resultados sugieren que la expresión de la proteína SMN en otros tejidos además del cerebro es igualmente importante para la supervivencia a largo plazo de un paciente con una forma grave de AME.

Comienzo de la evolución del oligonucleótido antisentido ISIS-SMNRx en seres humanos

Se ha desarrollado un oligonucleótido, ISIS-SMNRx, con el objetivo de aumentar la producción de proteínas SMN funcionales alterando el proceso de corte y empalme del gen *SMN2*. Este oligonucleótido demostró su capacidad para aumentar el número de motoneuronas y alargar la vida de los modelos de ratón de AME.

En el momento de la redacción de este texto, un ensayo clínico de fase I con administración gradual de dosis crecientes de ISIS-SMNRx mediante una única inyección intratecal (es decir, en el líquido que rodea la médula espinal, como si se tratase de una punción lumbar) está en fase de selección, en Estados Unidos, de 28 pacientes con AME, con edades de 2 a 14 años. El ensayo tiene por finalidad estudiar la inocuidad, la tolerancia y el comportamiento de la molécula en el organismo (farmacocinética) de los participantes. En cada grupo, compuesto por seis participantes, se analizarán cuatro dosis de tratamiento. En los seis

En un ensayo clínico de fase I se administra por primera vez un fármaco, cuyo interés terapéutico ha sido demostrado en animales y/o células (ensayos preclínicos), a un pequeño grupo de voluntarios sanos, con menos frecuencia a enfermos, para estudiar la tolerancia a la sustancia en función de la dosis (¿Cómo se absorbe y se elimina el futuro tratamiento?; ¿cómo se distribuye en los órganos?; ¿es tóxico y a qué dosis?; ¿presenta efectos secundarios?).

>> Essais cliniques et maladies neuromusculaires, Repères Savoir & Comprendre, (Ensayos clínicos y enfermedades neuromusculares, Referencias Saber y Entender), AFM, julio 2010. [N. de las Tr.: este documento aún no ha sido traducido al castellano, pero se puede consultar en francés en el siguiente enlace: <http://www.afm-telethon.fr/maladies-neuromusculaires/concerne-par-la-maladie/infos-maladies/reperes-savoir-comprendre/>]

La farmacocinética estudia el futuro de un medicamento en el organismo: cómo se absorbe (¿cantidad, velocidad...)?, ¿cómo se extiende en el organismo (cantidad, velocidad...)?, ¿cómo se transforma y se elimina (por el hígado, por el riñón...)?



En un ensayo clínico de fase II, se administró un fármaco, que previamente había demostrado una buena tolerancia (en un ensayo de fase I), a un grupo de enfermos para determinar su eficacia terapéutica, las dosis óptimas y la seguridad del tratamiento (¿Cuál es el modo de administración y la dosis máxima tolerada?). La fase II se puede dividir en dos etapas: la fase IIa, que estudia la dosificación, y la fase IIb, que se centra en la eficacia del tratamiento.

>> Essais cliniques et maladies neuromusculaires, Repères Savoir & Comprendre, (Ensayos clínicos y enfermedades neuromusculares, Referencias Saber y Entender), AFM, julio 2010. [N. de las Tr.: este documento aún no ha sido traducido al castellano, pero se puede consultar en francés en el siguiente enlace: <http://www.afm-telethon.fr/maladies-neuromusculaires/concerne-par-la-maladie/infos-maladies/reperes-savoir-comprendre>]

primeros participantes, se probará la dosis más baja. Si se tolera correctamente, los seis siguientes recibirán una dosis más alta y así hasta la dosis más elevada.

Los resultados están previstos para finales de 2012 (en el momento de la redacción de este texto).

Ensayo llevado a cabo en Estados Unidos

- Ensayo de fase I con administración gradual de dosis crecientes de ISIS-SMNRx, mediante una única inyección intratecal.
- Se seleccionó a 28 niños, de 2 a 14 años, con AME.
- Resultados previstos para finales de 2012 (en el momento de la redacción de este texto).

La molécula PTK-SMA1

Una nueva molécula denominada PTK-SMA1, que se presentó en el congreso Myology 2011, mejora el proceso de corte y empalme del exón 7 del gen SMN2 y aumenta la expresión de la proteína SMN en un modelo de ratón de AME, así como en una línea celular humana.

El triptólido

El triptólido es un compuesto que proviene de una planta tradicional china con eficacia demostrada en el tratamiento de la artritis reumatoide.

Muy recientemente, un equipo demostró que el triptólido aumenta en gran medida la expresión de SMN en las células de tipo motoneuronas y en los fibroblastos de pacientes con AME, lo que favorece la inclusión del exón 7 en el gen SMN2 y aumenta los gems nucleares.

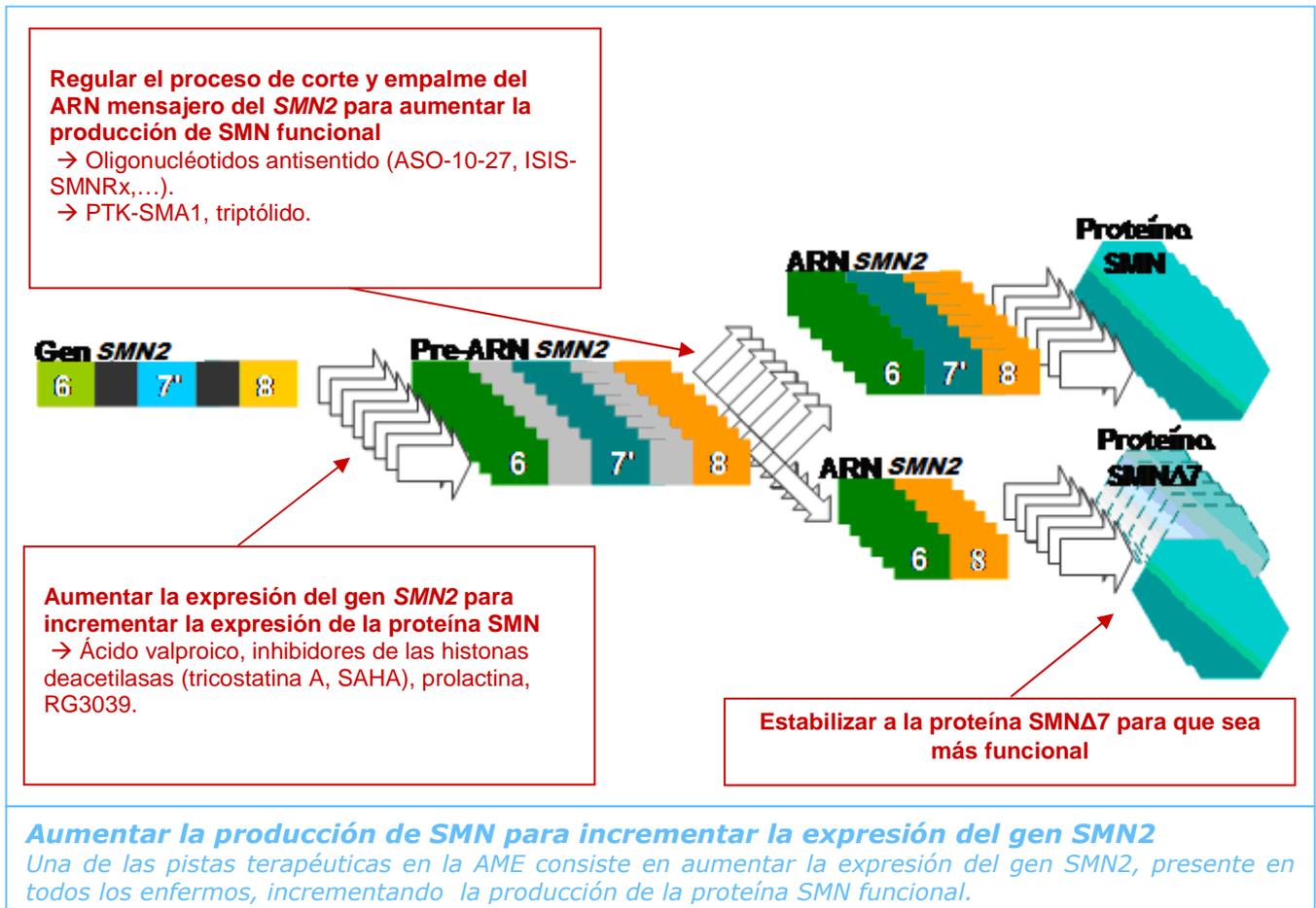
En los modelos de ratón de AME, la inyección de triptólido (0,01 o 0,1 mg/kg por día) conllevó un aumento significativo de los niveles de la proteína SMN en el cerebro, en la médula espinal y en los músculos, así como en el peso y en la supervivencia de estos ratones.

Aumentar la cantidad de la proteína SMN

Se trata de una de las pistas terapéuticas más estudiadas hoy en día: los ratones AME en los que se introducen copias suplementarias del gen SMN2 presentan, por el aumento de la tasa de la proteína SMN producida, una esperanza de vida sensiblemente superior e importantes mejoras funcionales. Los investigadores intentan estimular en los seres humanos las diferentes copias del gen SMN2, para producir la proteína SMN en mayor cantidad.

En 2011, se estudió el análisis de los niveles de ARN y de la proteína SMN tras diferentes tratamientos, en cultivos de fibroblastos y linfoblastos de siete pacientes con AME cuyos genotipos y signos clínicos eran diferentes. Las respuestas a los tratamientos con fenilbutirato de sodio, ácido valproico o hidroxurea demostraron una gran variabilidad tanto entre pacientes (incluso entre cuatro hermanas hijas de padres consanguíneos) como en un mismo paciente.

En Estados Unidos y en Europa ya se han realizado diversos ensayos clínicos para estos compuestos, o bien están en marcha.



Resultados negativos del ácido valproico

El potencial terapéutico del ácido valproico en la AME está todavía en discusión. En algunos estudios realizados en seres humanos se detectó un aumento de la producción de la proteína SMN o una mejora de la fuerza muscular. Otros ponen de manifiesto una ausencia total de beneficios. Además, conlleva una reducción de los niveles de carnitina, ya de por sí baja en los enfermos de AME, por la disminución de la masa muscular.

Se ha publicado los resultados del ensayo CARNI-VAL (de CARNItina y ácido VALproico). Se trata de un ensayo multicéntrico de fase II aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, concebido en dos partes con el objetivo de estudiar el posible beneficio terapéutico de un tratamiento que asocia el ácido valproico con la carnitina en la mejora de la función motriz.

La primera parte del ensayo, realizado por un equipo norteamericano en un grupo de 61 niños con AME de tipo II o III que no andaban pero sí se sentaban, no mostró que el tratamiento presentase beneficios terapéuticos durante seis meses. En 2011, se publicaron los resultados de la segunda parte del ensayo que consistía en evaluar la inocuidad y la eficacia del tratamiento en un grupo de 33 niños de 3 a 17 años con AME de tipo III y que podían andar. Recibieron el tratamiento o el placebo durante 12 meses. De los 33 participantes, 28 realizaron el estudio completo. Toleraron correctamente el tratamiento, a pesar de un alto porcentaje de efectos no deseados (85%), relativamente moderados y transitorios. Frente a esto, ni al cabo de seis ni de doce meses, se apreciaba ninguna diferencia significativa en la función motriz. Además, en el 17% de los participantes se registró un aumento de

En un ensayo aleatorizado, los participantes se distribuyeron al azar en los diferentes grupos.

En un ensayo doble ciego, ni los pacientes ni los médicos conocen con qué alternativa de tratamiento se está tratando a los pacientes.

Cuando se hace un ensayo clínico controlado con placebo, se emplea un placebo (un producto que se parece al fármaco a estudiar, pero que no contiene ningún principio activo para medir la acción real del mismo) y se comparan los efectos del fármaco y del placebo.



peso excesivo. Este estudio evidenció la ineficacia del tratamiento con ácido valproico para mejorar la fuerza o la función motriz de niños con AME.

Los inhibidores de las histonas deacetilasas

En 2007, se comprobó que si se administraba tricostatina A (un inhibidor de las histonas deacetilasas) a ratones, se podían mejorar las manifestaciones de la enfermedad (fenotipo), incluso después de su inicio, al favorecerse la producción de la proteína SMN.

El IGF-1 es un factor de crecimiento insulínico que estimula la proliferación y la diferenciación muscular. Su sobreexpresión en modelos de ratón de AME aumenta el tamaño de las fibras musculares.

Asociado a un tratamiento con tricostatina A, la función motriz y la supervivencia de los ratones modelo mejoraron considerablemente.

El interés del SAHA (siglas en inglés del ácido hidroxámico suberoilánilida), otro inhibidor de las histonas deacetilasas, se confirmó en dos modelos de ratón de AME. El SAHA permitió mejorar el promedio de duración de vida, el peso y la función motriz de los ratones tratados. Asimismo, el tratamiento aumentó la expresión de SMN en la médula espinal y en los músculos. El ser humano tolera bien el SAHA, que ya se utilizó en ensayos clínicos contra el cáncer, y presenta una buena biodisponibilidad cuando se administra por vía oral.

La prolactina

En 2011, un equipo demostró que la prolactina aumenta los niveles de ARN y de la proteína SMN en las células neuronales de ratones o de seres humanos activando la vía de señalización que implica la proteína STAT5. Esta proteína contribuye al crecimiento, a la diferenciación y a la muerte de las células.

El tratamiento con prolactina de un modelo de ratón de AME grave aumenta no solo la producción de SMN, sino que también mejora la función motriz y alarga la supervivencia de estos ratones.

La RG3039

La administración de una pequeña molécula (la RG3039) en células de pacientes con AME aumenta la producción de la proteína SMN. Suministrar RG3039 a animales con AME mejora la movilidad y prolonga su vida. Teniendo en cuenta estos resultados, en mayo de 2011 se inició en Estados Unidos un ensayo doble ciego de fase I para estudiar la inocuidad y el comportamiento en el organismo (farmacocinética) de dosis crecientes de RG3039 en 34 personas no enfermas (voluntarios sanos). En abril de 2012, se anunciaron los resultados positivos de este ensayo. La molécula mostró una buena tolerancia en todas las dosis probadas. La empresa farmacéutica estadounidense Repligen, que desarrolla esta molécula, tiene previsto coordinar un ensayo de fase I para probar los efectos de la RG3039 en personas con AME.

Este ensayo está en proceso de análisis en Estados Unidos

- Ensayo de fase I doble ciego con administración de dosis progresivas de dosis de RG3039.
- Finalizada la selección de 34 voluntarios sanos.
- Ensayo terminado. En fase de análisis.

Actuar sobre las rutas de señalización alteradas en la AME: el fasudil

Un equipo canadiense demostró que la ruta de señalización ROCK (una ruta que implica las proteínas RhoA y Rho-quinasa, que intervienen en la organización del citoesqueleto) estaba desregulada en la AME y su inhibición mejoraba la supervivencia de los modelos de ratón con esta enfermedad. El fasudil es un inhibidor ROCK cuyo uso se aprobó para la realización de numerosos ensayos clínicos estadounidenses en otras enfermedades.

En 2012, este mismo equipo estudió los efectos de la administración oral del fasudil, dos veces por día, con una dosis de 30 mg/kg, en ratones de laboratorio de 3 a 21 días de vida. Tanto la supervivencia de estos ratones como el tamaño de sus fibras musculares aumentaron significativamente.

Protección de la motoneurona en ensayos con seres humanos

Otro enfoque consiste en proteger la motoneurona de agresiones exteriores, aprovechando la experiencia adquirida en otra enfermedad de la motoneurona, la esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

El riluzol

El objetivo del ensayo francés ASIRI (Prof. B. Estournet, Francia), aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, consistió en estudiar la tolerancia y la eficacia (es decir, la estabilización de la enfermedad en un período de dos años) del riluzol en 141 niños y jóvenes con AME de tipo II o III. En el ensayo se incluyeron las 141 personas previstas. En el momento de redacción de este texto, se está trabajando en la publicación de estos resultados, previstos para 2012.

Ensayo terminado

- Ensayo doble ciego de fase II/III del tratamiento con riluzol: 50 mg/día en 141 personas con AME de tipo II y III.
- Publicación en fase de preparación.
- Investigador principal: Prof. B. Estournet (Centre de Référence des Maladies Garches-Necker-Mondor-Hendaya, Garches, Francia).

La oleoxime

La oleoxime (TRO19622) es una molécula que favorece a la función y la supervivencia de las neuronas de las personas con AME. A finales del año 2010, comenzó un ensayo controlado, doble ciego de fase II, para estudiar la tolerancia y la eficacia de la oleoxime durante 24 meses en personas no ambulantes con AME de tipo II o III. La selección de 150 personas está terminada. Los resultados están previstos para finales de 2013.

Ensayo en marcha

- Ensayo controlado y doble ciego de fase II del tratamiento con oleoxime: 10 mg/kg por día.
- Selección terminada de 150 personas de 3 a 25 años con AME de tipo II o III no ambulantes.
- Resultados previstos para finales de 2013.

Las vías de señalización celular permiten transmitir un mensaje al interior de una célula para modular su actividad (crecimiento, división, diferenciación, muerte...). El mensaje puede provenir de otras células del organismo o del entorno exterior. Su llegada al receptor de la célula provoca una reacción en cadena que va a modificar el comportamiento de la célula.

>> Durante todo el año, puede consultar el estado actual de las investigaciones de enfermedades neuromusculares en **WEB** www.afm-telathon.fr > Actualités > Toute l'actualité.