

ENFERMEDADES RARAS: DESENTRAÑANDO LAS BASES BIOLÓGICAS PARA ENCONTRAR FUTURAS TERAPIAS

MERCEDES SERRANO^{1,2}

¹Departamento de Neurología Pediátrica, Hospital Sant Joan de Déu,
Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Barcelona, ²U-703
Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBER-ER), ISCIII, España

Dirección postal: Mercedes Serrano, Departamento de Neurología Pediátrica, Hospital Sant Joan de Déu, Passeig Sant Joan de Déu, 2, 08950 Esplugues, Barcelona, España

E-mail: mercedes.serrano@sjd.es

Resumen

Las enfermedades raras, caracterizadas por su baja prevalencia y alta complejidad, afectan a millones de personas globalmente. Los avances en tecnologías como la secuenciación masiva mejoran nuestra capacidad de diagnóstico, aunque el manejo terapéutico sigue siendo mayoritariamente sintomático o paliativo, con muy escasos tratamientos curativos aprobados.

En el contexto de las enfermedades raras, especialmente los trastornos del neurodesarrollo de base genética, el desarrollo de terapias se enfrenta a múltiples retos, como la alta variabilidad fenotípica, los diversos mecanismos moleculares y biológicos subyacentes y las dificultades en la evaluación del neurodesarrollo tanto en la historia natural como en los ensayos clínicos. En la actualidad, estrategias como el reposicionamiento de fármacos, el desarrollo de biomarcadores y un enfoque multilateral en la búsqueda de soluciones amplían las posibilidades y ofrecen un escenario esperanzador. Este trabajo revisa diversas estrategias en el desarrollo de terapias, desde las terapias génicas y epigenéticas hasta la intervención en potenciales dianas biológicas.

Palabras clave: epigenética, terapia génica, trastornos del neurodesarrollo

Abstract

Rare diseases: unraveling the biological basis to find future therapies

Rare diseases are characterized by low prevalence and high complexity, affecting millions globally. Although technologies like massive sequencing improve diagnose, therapeutic options remain largely symptomatic or palliative, with few curative treatments approved.

In the context of rare diseases, especially genetic neurodevelopmental disorders, therapy development faces obstacles such as phenotypic variability, diverse molecular mechanisms, and complexities in assessing neurodevelopment in natural history and clinical trials. Current strategies include drug repositioning, biomarker development, and a multilateral approach in seeking solutions, offering hope. This work reviews various strategies in developing therapies, from gene therapy and epigenetic therapies to identifying biological targets.

Key words: epigenetics, gene therapy, neurodevelopmental disorders

En la Unión Europea, las enfermedades raras (EERR) se definen como aquellas con una preva-

lencia menor a 5 por 10 000 personas y que afectan a la calidad de vida de quienes las padecen. En EE. UU., se consideran EERR las que afectan a menos de 200 000 personas (80-90/100 000 habitantes) y otras naciones manejan prevalencias similares. Se estima que hay entre 7000 y 10 000 EERR diferentes que afectan a más del 6% de la población mundial (300-500 millones de personas). A pesar de su baja prevalencia individual, son numerosas y representan un problema de salud pública, lo que se ha denominado paradoja de la rareza. La mayoría son crónicas, progresivas y muchas tienen origen genético y debutan durante la infancia. Hablar de EERR es hablar de la odisea del diagnóstico, por el frecuente retraso o ausencia del diagnóstico confirmado, a pesar de los avances en secuenciación masiva. Pero le sigue igualmente una odisea del manejo, ya que la mayoría de las EERR tienen un manejo sintomático y menos del 5% tienen un tratamiento curativo aprobado (fármaco huérfano)¹.

Retos en el desarrollo de terapias en enfermedades raras

A pesar de las diferencias entre las diversas EERR, se enfrentan a retos comunes. Esta revisión facilita un recorrido por los problemas y posibilidades actuales en el desarrollo de estrategias terapéuticas en los trastornos del neurodesarrollo de base genética (TNDG) como paradigma de EERR. Los TNDG se caracterizan por su alta variabilidad fenotípica: factores genéticos, epigenéticos y ambientales, aún no bien conocidos, modifican la expresión fenotípica. Esta diversidad dificulta la aplicabilidad de una evaluación estandarizada generalizable, imprescindible para valorar el efecto de una intervención terapéutica.

Conocemos las manifestaciones de los TNDG más frecuentes (síndromes de X frágil, Angelman, Rett, etc.) pero en pocos se ha descrito su historia natural. Esta información es crucial al seleccionar resultados buscados (*outcome measures*), diseñar ensayos clínicos (EC) y usar la historia natural como grupo de control, dada su baja prevalencia. La gran variabilidad y la ausencia de conocimiento de la historia natural resultan en una situación compleja. Incluso EC en una misma condición priorizan diferentes resultados esperados y evalúan la eficacia de la intervención

utilizando distintas herramientas de medida. Por ejemplo, en el síndrome de X frágil, diferentes intervenciones farmacológicas *off-label* se han dirigido a distintos síntomas medidos con diversas escalas de conducta adaptativa, comunicación o funciones ejecutivas, complicando la comparación de resultados entre sí². Además, muchas de estas escalas deben validarse en el idioma y dialecto específicos donde se realiza el estudio, lo que limita la inclusión de pacientes con lenguas nativas no validadas. Afortunadamente, existen iniciativas que buscan homogeneizar y proporcionar un único repositorio de medidas de evaluación para los diferentes TNDG, disponible por ahora en inglés y español³.

El desarrollo de biomarcadores en TNDG es un área compleja, pero en crecimiento, que busca medidas de resultados confiables, reproducibles y precisos. Destacan biomarcadores neurofisiológicos, como el análisis cuantitativo del EEG en la microduplicación 15q11q13⁴, y los potenciales evocados auditivos relacionados con eventos en el síndrome de X frágil⁵, biomarcadores biológicos (proteómicos, transcriptómicos o metabolómicos), y de neuroimagen⁶. Además, se están utilizando tecnologías vestibles (*wearables*), por ejemplo, para evaluar la marcha, y otras que permiten monitorizar el seguimiento ocular (*eye tracking*), como en el síndrome de X frágil⁷. Contar con estudios de historia natural con estas evaluaciones podría servir como control para facilitar comparaciones en EC, mejorando la robustez estadística.

Es relevante el creciente requisito de las agencias del medicamento de incluir entre los resultados medibles los PROMS (*patient reported outcome measures*), desarrollados con la participación ineludible de pacientes y familias. Esto centra la investigación y desarrollo de terapias en las verdaderas prioridades de quienes las sufren.

El desarrollo de una nueva terapia para una EERR es un proceso largo y costoso, aunque incentivado por legislaciones actuales con licencias y beneficios asociados al registro de un fármaco huérfano. Frente a esto, el reposicionamiento de fármacos utiliza principios activos ya disponibles y evaluados en estudios preclínicos y en muchas ocasiones en las primeras fases de EC. Este enfoque, menos innovador, es más rápido y económico⁸. La selección de un poten-

cial principio activo puede realizarse por observación de una similitud o por casualidad, por la selección guiada por algoritmos basados en biología de sistemas⁹ o mediante el cribado de moléculas en modelos celulares (*drug screen*). En el segundo y tercer caso, se han desarrollado estrategias de alto rendimiento (*high throughput*) que mejoran significativamente las posibilidades.

En el cribado de moléculas en laboratorio en seco, se utiliza la biología de sistemas, una disciplina integradora que conecta componentes moleculares a diferentes escalas (celular, de tejido y de órgano) para explorar entre miles de principios activos. Se emplean modelos computacionales y tecnologías experimentales de alta capacidad. Existen repositorios de información detallada sobre más de 20 000 fármacos aprobados para uso médico¹⁰. En el cribado de moléculas en laboratorio húmedo, se emplea una plataforma automatizada con un sistema robotizado que permite manipular cientos de placas de ensayo, reduciendo, además, los errores humanos. Existen repositorios de principios activos con más de 2000 moléculas disponibles en algunos casos¹¹.

Aproximaciones en el desarrollo de terapias en trastornos del neurodesarrollo de base genética

El mecanismo molecular y celular subyacente en los diversos TNDG da lugar a estrategias terapéuticas diversas, que pueden organizarse en cuatro grandes grupos: (1) terapia génica, (2) edición génica, (3) terapias que modifican la expresión del ADN y (4) terapias dirigidas a dianas biológicas. A continuación, se presentará una introducción general a cada grupo y se proporcionarán ejemplos específicos en TNDG.

1. *Terapia génica: introducción de material genético mediado por virus*

La terapia génica consiste en utilizar vectores para transportar y reemplazar genes disfuncionales, especialmente en condiciones monogénicas donde la haploinsuficiencia causa la enfermedad. Los adenovirus (AAV), pequeños virus de ADN (20-25 nm), son comúnmente utilizados como herramientas de transporte debido a sus diferentes serotipos con tropismos celulares y tisulares específicos. El AAV9 es ampliamente usado en condiciones que afectan el sistema

nervioso central, dado su tropismo por neuronas y neuroglía, y su capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica. No obstante, la administración intratecal en el líquido cefalorraquídeo aumenta su biodisponibilidad en el tejido diana¹². Un ejemplo destacado de esta terapia en neuropediatría es el onasemnogene abeparvovec-xioi (Zolgensma) para la atrofia muscular espinal.

Existe también una variante conocida como terapia génica *ex vivo*, donde se realizan trasplantes de células madre hematopoyéticas autólogas tras la inserción del gen de interés. Esta variante se encuentra en una fase avanzada de desarrollo preclínico para condiciones como el síndrome de Angelman¹³.

Los retos actuales de la terapia génica incluyen la potencial respuesta inmunológica del huésped, la limitada capacidad de transporte de los AAV y su adecuado acceso al tejido y estructura diana.

En el síndrome de X frágil, causado por una expansión inestable de un triplete CGG (citosina-guanina-guanina) en el intrón 1 del gen *FMR1* en el cromosoma X silenciándolo, se ha desarrollado un modelo murino. En él, la inyección intraventricular de un AAV9 logró niveles estables de proteína FMRP (*Fragile X Mental Retardation Protein*) en las regiones periventriculares del cerebro, mejorando funciones sociales y conducta, aunque no el fenotipo completo¹⁴.

En algunas condiciones, la forma de herencia puede representar un riesgo para el uso de la terapia génica, como en el síndrome de Rett, causado por variantes patógenas en el gen *MeCP2*. En niñas con síndrome de Rett, existe un mosaicismo genético donde aproximadamente la mitad de las células expresan el *MeCP2* no mutado y la otra mitad tienen la variante mutante. Es crucial destacar que también la sobreexpresión de *MeCP2*, como en el síndrome por duplicación de *MeCP2*, es patogénica, causando trastornos del neurodesarrollo y discapacidad intelectual. Por lo tanto, el reemplazo genético de *MeCP2* podría tener efectos indeseables en las células con el alelo no mutado¹².

2. *Edición genética: modificación directa de secuencias de ADN dentro del genoma*

La causa del síndrome de Angelman (AS) es la deficiencia o el funcionamiento anormal de la

ubiquitina-proteína ligasa E3A (UBE3A), que se expresa a partir del alelo materno del gen *UBE3A* en el cromosoma 15. La pérdida de su expresión ocurre debido a varios mecanismos moleculares, siendo la delección 15q11q13 la más frecuente, y menos frecuente por mutación y disomía uniparental paterna. En el primer caso, la copia paterna intacta se encuentra silenciada por un mecanismo singular: un transcrito antisentido largo no codificante, conocido como *UBE3A-ATS*, que se encuentra adyacente en la misma región del cromosoma 15. En el modelo murino, se está evaluando la mutagénesis dirigida de la región codificante del *UBE3A-ATS* utilizando CRISPR/Cas9 para interferir en la generación del transcrito antisentido del alelo paterno, con el objetivo de “desilenciar” el *UBE3A* paterno¹³.

3. *Terapias que modifican la expresión del ADN sin modificar la secuencia: oligonucleótidos antisentido, ARN de interferencia y modificadores epigenéticos*

En TNDG se están desarrollando terapias de ARN, como los oligonucleótidos antisentido (ASO) y los pequeños ARN de interferencia (siRNA). Varios EC en síndrome de Angelman utilizan ASOs administrados intratecalmente, para anular el transcrito *UBE3A-ATS*, lo que permitiría la lectura del *UBE3A* paterno para recuperar el fenotipo¹³. También se han mostrado eficaces en el modelo ratón de síndrome de Dravet, causado por variantes patogénicas en *SCN1A*. Actualmente, un EC de terapia intratecal con ASO en síndrome de Dravet está en curso (ClinicalTrials.gov: NCT04442295/NCT04740476).

Entre los TNDG, se reconocen cada vez más genes que participan en mecanismos epigenéticos: procesos que afectan la expresión génica sin modificar la secuencia de ADN. Sus mutaciones afectan a modificaciones postraduccionales de histonas (PTMs) y metilación del ADN (DNAm)¹⁵. Las PTMs regulan la expresión génica: la metilación y desacetilación de histonas disminuyen la lectura del ADN, mientras que la demetilación y acetilación la favorecen, junto con otras modificaciones bioquímicas. Estos procesos, que implican metilasas, demetilasas, acetilasas y desacetilasas, requieren un equilibrio espacio-temporal riguroso. Los genes que están implicados en TNDG que afectan estos procesos pueden compensarse con las llamadas *epidrugs*, algunas de ellas ya disponibles, como los inhibi-

dores de desacetilasas de histonas (HDACi), destacando los ácidos hidroxámicos (tricostatina A) y los ácidos carboxílicos (butirato sódico, fenilbutirato y valproato sódico).

El síndrome de Rubinstein-Taybi es el modelo de condición epigenética causado por variantes patogénicas en los genes *CREBBP* y *EP300*, que codifican las acetiltransferasas de lisina CBP/p300¹⁶. Su pérdida de función causa una disminución en acetilación de histonas, que podría ser rescatada con HDACi, lo que ha sido investigado en modelos neuronales utilizando tricostatina A. También se ha evaluado en un EC finalizado en 2014 utilizando valproato sódico, con resultados aún no publicados (ClinicalTrials.gov: NCT01619644).

4. *Terapias dirigidas a dianas biológicas*

Tomando como ejemplo el síndrome de Down (SD), paradigma de los TNDG a pesar de no ser una enfermedad rara, repasaremos la estrategia de búsqueda de dianas terapéuticas. En los últimos años, con el fin de mitigar síntomas neurocognitivos del SD, se han realizado diversos EC aleatorios y controlados frente a placebo, dirigidos a diferentes dianas biológicas. La mayoría se han realizado en adultos jóvenes, con menos estudios en población pediátrica, y en muchos casos los resultados han sido moderadamente alentadores o no exitosos.

El basmisanil, un modulador alostérico negativo del receptor GABAA- α 5, alentador en el modelo murino, atenuaría la función gabaérgica y restauraría el equilibrio entre mecanismos excitatorio e inhibitorio, postulados subyacentes a los problemas cognitivos en el SD. Sin embargo, un EC en adolescentes y adultos jóvenes, no demostró diferencias en memoria de trabajo, conducta adaptativa o calidad de vida¹⁷. Recientemente, el EC PERSEUS evaluó el uso de epigallocatequina galato (EGCG), un flavanol del té verde, en niños con SD ya que podría modular una proteína sobreexpresada, producto del gen *DYRK1A*, que se cree está asociada con el neurodesarrollo anormal. El estudio mostró una adecuada tolerancia, pero no se observaron mejoras significativas en funciones cognitivas ni adaptativas¹⁸. Finalmente, un estudio preliminar describe éxito en el ratón y en siete adultos jóvenes del uso de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) mediante una bomba de adminis-

tración pulsátil, sugiriendo que la disfunción en la GnRH podría impactar en funciones cognitivas. Este estudio mostró mejoría en funciones ejecutivas, atención, comprensión verbal y conectividad neuronal¹⁹.

Conclusiones

Son múltiples los desafíos en el desarrollo de terapias en los TNDG. En este escenario, es crucial reflexionar sobre el papel del médico clínico, que desde su posición cercana al paciente y su familia puede contribuir significativamente. Podemos orientar eficazmente hacia el diagnóstico etiológico, colaborar en un detallado fenotipado clínico que facilite la evaluación de resultados, e incluso participar en la validación y diseño de escalas de medida y la selección de biomarcadores. Además, podemos ayudar al reclutamiento y capacitar a las familias para comprender los

riesgos y oportunidades de participar en EC. Nuestra función como intermediarios entre los pacientes y las empresas farmacéuticas nos permite priorizar y defender los intereses y derechos de aquellos que más lo necesitan, además de guiar a investigadores e inversores, a veces distanciados de la realidad clínica, hacia la viabilidad y relevancia de sus investigaciones.

Ante la denominada odisea del manejo, la principal función del médico clínico debería ser estar preparado ante la deseada posibilidad de ofrecer una terapia: estar capacitado para invitar pacientes y estar dotado de herramientas para evaluar su eficacia frente a la evolución natural de la condición.

Conflicto de intereses: Mercedes Serrano ha participado en los ensayos clínicos BP41674, BP42992, BP41674 (F. Hoffmann-La Roche), GTX-102-001 (Ultragenyx Pharmaceutical).

Bibliografía

1. Ferreira CR. The burden of rare diseases. *Am J Med Genet A* 2019; 179: 885-92.
2. Berry-Kravis EM, Lindemann L, Jønch AE, et al. Drug development for neurodevelopmental disorders: lessons learned from fragile X syndrome. *Nat Rev Drug Discov* 2018; 17: 280-99.
3. Shields RH, Kaat A, Sansone SM, et al. Sensitivity of the NIH toolbox to detect cognitive change in individuals with intellectual and developmental disability. *Neurology* 2023; 100: e778-89.
4. Frohlich J, Senturk D, Saravanapandian V, et al. A quantitative electrophysiological biomarker of duplication 15q11.2-q13.1 syndrome. *PLoS One* 2016; 11: e0167179.
5. Ethridge L, Thaliath A, Kraff J, Nijhawan K, Berry-Kravis E. Development of neural response to novel sounds in fragile X syndrome: potential biomarkers. *Am J Intellect Dev Disabil* 2020; 125: 449-64.
6. Manfredi-Lozano M, Leysen V, Adamo M, et al. GnRH replacement rescues cognition in Down syndrome. *Science* 2022; 377: eabq4515.
7. Farzin F, Scaggs F, Hervey C, Berry-Kravis E, Hessl D. Reliability of eye tracking and pupillometry measures in individuals with fragile X syndrome. *J Autism Dev Disord* 2011; 41: 1515-22.
8. Sun W, Zheng W, Simeonov A. Drug discovery and development for rare genetic disorders. *Am J Med Genet A* 2017; 173: 2307-22.
9. Tavassoly I, Goldfarb J, Iyengar R. Systems biology primer: the basic methods and approaches. *Essays Biochem* 2018; 62: 487-500.
10. Wishart DS, Knox C, Guo AC, et al. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res* 2008; 36: D901-6.
11. Huggins DJ, Venkitaraman AR, Spring DR. Rational methods for the selection of diverse screening compounds. *ACS Chem Biol* 2011; 6: 208-17.
12. Ozlu C, Bailey RM, Sinnett S, Goodspeed KD. Gene transfer therapy for neurodevelopmental disorders. *Dev Neurosci* 2021; 43: 230-40.
13. Markati T, Duis J, Servais L. Therapies in preclinical and clinical development for Angelman syndrome. *Expert Opin Investig Drugs* 2021; 30: 709-20.
14. Gholizadeh S, Arsenault J, Xuan IC, Pacey LK, Hampson DR. Reduced phenotypic severity following adeno-associated virus-mediated Fmr1 gene delivery in fragile X mice. *Neuropsychopharmacology* 2014; 39: 3100-11.
15. Aref-Eshghi E, Kerkhof J, Pedro VP, et al. Evaluation of DNA methylation epigenatures for diagnosis and

- phenotype correlations in 42 Mendelian neurodevelopmental. *Am J Hum Genet* 2020; 106:356-70.
16. Van Gils J, Magdinier F, Fergelot P, Lacombe D. Rubinstein-Taybi syndrome: a model of epigenetic disorder. *Genes* 2021; 12: 968.
 17. Goeldner C, Kishnani PS, Skotko BG, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase II trial to explore the effects of a GABAA- α 5 NAM (basmisanil) on intellectual disability associated with Down syndrome. *J Neurodev Disord* 2022; 14: 10.
 18. Cieuta-Walti C, Cuenca-Royo A, Langohr K, et al. Safety and preliminary efficacy on cognitive performance and adaptive functionality of epigallocatechin gallate (EGCG) in children with Down syndrome. A randomized phase Ib clinical trial (PERSEUS study). *Genet Med* 2022; 24: 2004-13.
 19. Manfredi-Lozano M, Leysen V, Adamo M, et al. GnRH replacement rescues cognition in Down syndrome. *Science* 2022; 377: eabq4515.