

# Meeting of the Minds

by *Jana von Hehn, PhD* | June 7, 2018

## El encuentro de las mentes

por *Jana von Hehn, PhD* | 7 de junio de 2018

La mayoría de los encuentros científicos se esfuerzan en informar a la audiencia sobre la situación de la investigación presentando datos de manera consolidada, maximizando el tiempo de exposición de cada ponente, muchas veces en detrimento del tiempo de discusión. Es común separar las sesiones clínicas de las científicas. Este año, cuando planeábamos nuestro Encuentro de Investigadores en Boston en los días 21 a 24 de mayo, Monica y Randy tuvieron la perspicacia de enfocarlo de manera distinta.

Decidieron que lo que realmente se necesitaba era un “Encuentro de mentes” donde nuestros científicos de base y médicos expertos en Rett pudieran actualizarse unos a otros sobre la situación actual del tema mientras mantenían la atención en las cuestiones clave que todavía no se han tratado y en los principales obstáculos para el éxito. Este formato potencialmente arriesgado e inusual centrado en los retos y las dificultades, diseñado para promover una discusión activa y fomentar la lluvia de ideas y la solución de problemas desde nuevos ángulos, no solo fue estimulante y provocador, sino efectivo. Se encontraron nuevos acercamientos, pensamiento “fuera de lo establecido”, y se plantaron las semillas de nuevas colaboraciones.

Los aspectos sociales del encuentro ayudaron a fortalecer relaciones pre-existentes y fomentar nuevas. Los investigadores valoraron positivamente la oportunidad de no perder de vista el fin último cuando se encontraron con niñas locales con Rett y aprendieron sobre sus vidas. Fue conmovedor ver a las familias comprender y apreciar los esfuerzos de los investigadores que buscan llegar al fondo de esta enfermedad.

El encuentro empezó con la función básica de MECP2 y los acercamientos de terapia genética en desarrollo, seguido de las herramientas clave y los sistemas de modelos en el estudio de MECP2, estrategias y progreso en la reactivación de MECP2, y finalizó con los aprendizajes de investigación clínica y la medición de resultados para comprobar la eficacia terapéutica.

Salí de este encuentro sintiéndome extremadamente entusiasmada y optimista sobre a dónde están yendo las cosas, pero también consciente de los retos que todavía nos quedan. En resumen, las mutaciones que causan el Síndrome de Rett afectan de manera general la función cerebral mediante mecanismos complejos que todavía no se comprenden del todo. No es sorprendente que centrarse en la causa raíz del Síndrome de Rett mediante la restauración de la

proteína MeCP2 en las células cerebrales sea mucho más efectivo que tratar disrupciones de alguno de los numerosas vías de afectación. Dado que los genes MECP2 de humanos y de ratones no son idénticos, será necesario optimizar muchas de las nuevas terapias biológicas (p.ej., modificaciones de ARN, reactivación de MECP2) en las líneas celulares humanas con una inactivación-X estable que se está generando actualmente. A pesar de que hay optimismo en que la terapia génica inicial va a tener un beneficio significativo, se van a seguir en paralelo otros programas de terapia génica de nueva generación. Un objetivo compartido de todos estos programas que buscan la curación es obtener una entrega uniforme a todas las células del cerebro y optimizar de manera efectiva los niveles de MeCP2 en cada célula.

Para cualquiera que quiera profundizar en la investigación, abajo hay más detalles sobre lo que se presentó en cada sesión y sobre algunas de las preguntas pendientes que deben ser tratadas.

### **Función MECP2**

Sabemos que MECP2 regula la expresión de cientos de genes y que los cambios de comportamiento en modelos de ratos con Rett son difíciles de evaluar de forma efectiva cuando se evalúan las posibles terapias. La severidad de la mutaciones de MECP2 en humanos se correlaciona bien con el tiempo de supervivencia en ratones macho con Rett, lo que nos sugiere que la supervivencia puede ser un buen marcador para el éxito potencial de las terapias.

Siguió una animada discusión sobre el mínimo nivel de proteína MeCP2 necesaria para mejorar la función celular, y sobre qué porcentaje de células deben conseguir este nivel para conseguir un beneficio terapéutico. Se recordó que la supervivencia en el modelo de ratones con Rett se prolonga significativamente cuando los niveles de proteína MeCP2 son superiores al 5-10% del normal en todas las células, o cuando los niveles de proteína se consiguen en un 10-40% de las células.

### **Enfoques genéticos: ADN y ARN**

La sesión más mentalmente provocadora fue la de terapia génica. Una discusión animada fue consciente de que la terapia génica es un enfoque terapéutico nuevo y que somos todos pioneros. Brian Kaspar, de AveXis, indicó que todos los datos apuntan a un producto de terapia génica bien tolerada y no-tóxica, y presentó los resultados de eficacia para AVXS-201 (que va a empezar ensayos clínicos a principios del próximo año), que son significativamente mejores que cualquier otro medicamento que se haya probado en ratones anteriormente.

Las presentaciones que siguieron mostraron los riesgos asociados a la terapia génica, así como aquellos que afectan específicamente al Síndrome de Rett. Sin embargo, tenemos confianza en que la FDA tiene suficiente experiencia en el campo de la terapia génica para asegurar que el estudio es todo lo seguro posible para el estudio con sujetos. Aspectos clave desconocidos seguirán siéndolo hasta que no empiece el primer ensayo clínico: ¿llegará gen MECP2 a un número suficiente de células cerebrales, y será capaz el gen entregado de producir una cantidad óptima de proteína en cada célula? No seremos capaces de predecir de forma segura la magnitud de la eficacia esperada en este primer ensayo. Teniendo esto presente, continuaremos investigando de manera

paralela centrándonos en mejorar la entrega al cerebro y regulando la cantidad de proteína MeCP2 producida.

En un área nueva y a punto de empezar, la modificación de ARN, los científicos están trabajando en el secuestro de maquinaria celular existente para corregir mutaciones a nivel de ARN y así restaurar los niveles normales de proteína MeCP2 en cada célula. Aunque esté bastante menos avanzado que la terapia génica, estos enfoques ofrecen ventajas a la hora de regular el nivel de proteína MeCP2 en cada célula. La edición de ARN que persigue el laboratorio de Mandel demostró que la mayor tasa de corrección que se ha conseguido a día de hoy ha sido de una aclamada 72%. El empalme de ARN es un enfoque alternativo que tiene el potencial de corregir casi el 97% de todas las mutaciones de MECP2 con una sola terapia. Los esfuerzos actuales se centran en optimizar la eficiencia en la modificación de ARN y así avanzar rápidamente en el desarrollo de estas terapias hacia ensayos clínicos.

### **Células madre pluripotentes inducidas**

Una herramienta clave para el desarrollo de muchas de las nuevas terapias en Rett serán las células madre pluripotentes inducidas humanas, hiPSCs (human induced Pluripotent Stem Cells). hiPSCs se pueden usar para generar cualquier otro tipo de célula, permitiendo a los científicos generar células cerebrales a partir de pacientes con Síndrome de Rett. Los científicos académicos y de la industria han presentado avances en la utilización de hiPSCs en el descubrimiento y desarrollo de nuevas terapias para el Síndrome de Rett. Otra herramienta que se está usando para estudiar el Síndrome de Rett es generar organoides, o “cerebros en placas”, mediante hiPSC. Los organoides crecen hacia tipos y capas celulares más complejos y aportan vías informativas para la evaluación de la señalización celular.

Un problema particular en el estudio de hiPSCs de Síndrome de Rett es que la inactivación X, o la silenciación de uno de los dos cromosomas X de las células femeninas, puede degradarse en estas líneas celulares, y todavía no sabemos como controlar esto de manera consistente. Es importante para este campo de investigación comprender y controlar la inactivación-X en hiPSCs, no solo para facilitar el desarrollo terapéutico, sino también para explorar el potencial para explotar mecanismos subyacentes de reactivación de MECP2 en el cromosoma X silenciado.

### **Reactivación de MECP2**

Un regulador clave de la inactivación X es Xist, un ARN no codificante que envuelve al cromosoma, llevando a su silenciación. Pero será suficiente la pérdida de Xist para encender la expresión genética o necesitamos un paso adicional de activación? La pérdida de Xist parece no tener efectos negativos en ratones y puede resultar en una reactivación de MECP2 del 2-5%. Un aumento de 4-10% en los niveles de proteína MeCP2 conlleva un aumento del 25% en la supervivencia en ratones.

También se están siguiendo enfoques alternativos para activar MECP2 usando CRISPR/dCas9 o Dedo de Zinc. Los experimentos recientes han mostrado que cambiar el estado del gen de una firma silenciada a una activa es suficiente para encender el gen de un cromosoma X activo, y se están optimizando las condiciones para encender MECP2 desde un cromosoma silenciado.

Todavía quedan algunas cuestiones pendientes: ¿Puede este método usarse en neuronas, y son sus efectos de corto o largo plazo? ¿Habrá alguna respuesta inmune a las nuevas proteínas administradas para activar el gen? ¿Podemos usar medicinas existentes para mejorar la eficiencia en la expresión de MECP?

### **Investigación clínica**

El Estudio de Historia Natural tiene casi 2.000 pacientes a día de hoy, y los descubrimientos de este estudio observacional han resultado en 30 publicaciones, y muchas otras pendientes o en preparación. Los esfuerzos actuales se centran en hacer que estos datos sean más accesibles para las familias, apoyando a la industria y los ensayos clínicos en Síndrome de Rett, y desarrollando mediciones de resultados clínicos mejores. Otros objetivos adicionales incluyen la estandarización de la asistencia clínica y la identificación de biomarcadores.

Los desórdenes del neurodesarrollo han sido históricamente difíciles de estudiar, y muchas de las terapias con éxito en modelos de ratones no se han traducido en eficacia en humanos. Se sugirió que era necesario un cambio de paradigma en la FDA para centrar el estudio de toda la enfermedad en vez de en comportamientos específicos. Médicos, asociaciones de pacientes y la industria hicieron un llamamiento a la FDA para que desarrolle evaluaciones mejoradas sobre la eficacia en ensayos clínicos. ¿Pueden las evaluaciones en células humanas mejorar la probabilidad de la eficacia en ensayos clínicos para Síndrome de Rett?

### **Nuevas mediciones de resultados**

Medir el cambio en la sintomatología de la enfermedad es clave para encontrar y demostrar terapias exitosas. Se necesitan escalas de severidad específicas para el Rett para poder documentar mejor los avances, tanto para las personas con Síndrome de Rett como para sus familias. Hay varias medidas fisiológicas (ondas cerebrales, patrones respiratorios) que están alterados en pacientes Rett y que podrían ser biomarcadores objetivo o mediciones de resultados.

Además de las mediciones de resultados que se llevan a cabo durante la visita clínica, está emergiendo un área de desarrollo para la recogida de datos insesgados y objetivos sobre la situación de la paciente durante un periodo continuo de tiempo. El potencial para emplear biosensores y grabaciones de vídeo en el entorno del hogar nos da la oportunidad de medir continuamente la salud, función y calidad de vida en un entorno de mundo real. Adicionalmente, se están explorando las proteínas celulares y las señalizaciones metabólicas para definir redes celulares interrumpidas y su potencial terapéutico correctivo, y para identificar biomarcadores para su uso en ensayos clínicos.