

Lectura a través de los codones de parada prematuros con PTC124. Proyecto Catálisis para encontrar más fármacos para Duchenne.

Entrevista con Ellen Welch PhD., Diane Goetz, y Neil Almstead PhD.

Esta entrevista se grabó en la compañía PTC Therapeutics en el sur de Plainfield, Nueva Jersey (cerca de 20 millas al oeste de Nueva York) por mí, **Günter Scheuerbrandt** PhD., el 21 de julio del 2008 después de la reunión anual del PPMD, el Parent Project Muscular Dystrophy Norteamericano, en Filadelfia. El siguiente es un texto editado y en versión abreviada de la entrevista original. Ha sido aprobado por PTC para la información de los pacientes, sus familias y cuidadores. Mis preguntas están escritas en cursiva, las respuestas de **Ellen Welch**, Directora Asociada, Desordenes Genéticos; **Diane Goetz**, Directora, Promoción del Paciente y Profesional, y **Neil Almstead**, Vicepresidente Principal, Química, en letras normales. Los capítulos sobre el PTC124 y el Proyecto Catálisis, tal como aparecieron en mi último informe, "Enfoques de investigación para una terapia de la distrofia muscular Duchenne" se muestran al final de este texto y deben leerse como una introducción a esta entrevista.

Esta entrevista será leída principalmente por los pacientes con DM Duchenne y sus familias. No tenemos que repetir lo que ya he explicado en mi último informe de investigación de Duchenne sobre el PTC124 y el Proyecto Catálisis, sino más bien hablar sobre el futuro, un mayor desarrollo de su trabajo para encontrar terapias para la distrofia muscular Duchenne. Se debería dar esperanza a las familias que se harán efectivos los tratamientos en un futuro no muy lejano.

El comienzo de PTC Therapeutics. *Mi primera pregunta es, cuando se empezó PTC? ¿Por qué seleccionaron la distrofia muscular de Duchenne y la fibrosis quística como los primeros objetivos de su investigación?*

Nosotros sólo tuvimos nuestro 10 aniversario en abril. Nuestra empresa, PTC Therapeutics, fue fundada por el Dr. **Stuart Peltz** y el Dr. **Allan Jacobson**, basándose en la tecnología que utilizaban en sus propios laboratorios. Ellos estaban estudiando la forma en que el ARN hacía las proteínas en el cuerpo, y estaban convencidos de que sería posible utilizar sustancias, que tenían pequeñas moléculas, para reparar los errores cometidos en el ARN mensajero que causan enfermedades hereditarias.

La razón por la que fuimos con la fibrosis quística era que estábamos colaborando con el Dr. **David Bedwell** en la Universidad de Alabama, que trabajó con un grupo clínico en fibrosis quística. Lo que es más importante, había desarrollado un ratón de laboratorio que tenía los genes de la fibrosis quística humana con una mutación sin sentido, que ha creado un codón de parada prematuro. Y se dio cuenta de que se podría superar esta parada con el antibiótico gentamicina a través de la lectura a través de la parada prematura, por lo que la producción de la proteína CFTR se restablecía, la que falta en pacientes con fibrosis quística.

¿Y que nos hizo entrar en la DM Duchenne? Ello se debe a que el profesor **Lee Sweeney** en la Universidad de

Pennsylvania había demostrado con **Beth Barton** en 1999, justo cuando la empresa empezó, que la gentamicina también puede leer a través del codón de parada prematuro en el exón 23 de los ratones mdx distróficos. Estos ratones entonces podrían hacer de nuevo la proteína distrofina de extensión completa, y sus síntomas se redujeron.

Llamamos a Lee y le preguntamos si pensaba probar uno de nuestros compuestos en su ratón. Él dijo: "Oh seguro, envíen el compuesto a nosotros y vamos a probarlo para ustedes." Lee es una persona maravillosa. Él no le importa si se publica un documento o no, lo importante para él es desarrollar medicamentos para los pacientes.

Los primeros objetivos: la distrofia muscular Duchenne y la fibrosis quística. *¿Así que comenzaron a desarrollar un fármaco de molécula pequeña para Duchenne y fibrosis quística al comienzo de su trabajo?*

Y seguimos haciéndolo. Estos dos proyectos van hacia adelante al mismo ritmo. Estas dos enfermedades son las enfermedades genéticas más frecuentes en la infancia. Hay una enorme necesidad de encontrar algo allí. Y fuimos felices de tener modelos animales que podíamos probar para saber si nuestros compuestos realmente trabajan. Así que esta es la razón por la que fuimos adelante con estas dos enfermedades.

Alrededor de dos a tres años atrás, fuimos a la FDA, los reguladores federales, y les explicamos que había una pequeña molécula que puede leer a través de una mutación sin sentido, y nos gustaría seguir adelante con la distrofia muscular y la fibrosis quística. Ellos dijeron que, debido a que el fármaco sería tratamiento a largo plazo durante el tiempo de vida de los pacientes, teníamos que desarrollar por separado para las dos enfermedades, y demostramos en primer lugar que es seguro. Por lo tanto, hemos diseñado las pruebas clínicas que están actualmente en curso en Duchenne y fibrosis quística.

En Duchenne, alrededor del 13% de los pacientes pue-

den ser tratados con PTC124. ¿Cuál es la situación en la fibrosis quística?

En general, la fibrosis quística aparece sólo en la población blanca, y cerca del 10% de los pacientes tienen una mutación sin sentido. Pero en Israel, el porcentaje se encuentra en el rango del 60%, porque hay un efecto fundador. La situación genética de la fibrosis quística es diferente de la distrofia muscular. El gen para la distrofia muscular está ligada al cromosoma X. Los chicos sólo tienen un gen de la distrofina. En la fibrosis quística, CF en inglés, el gen CFTR está en el cromosoma 7, para el que todo el mundo tiene dos genes y las mutaciones de la CF en los dos genes pueden ser diferentes. Una mutación puede ser la muy frecuente delta-F508, llevando a una delección del crítico aminoácido fenilalanina en la proteína, y en el otro gen, uno puede tener una mutación sin sentido. Incluso si sólo hay un codón de parada prematuro en un gen y otra mutación en el otro, el PTC124 probablemente ayuda.

¿Cómo funciona el PTC124? *Antes de hablar del Proyecto Catálisis, tengo una pregunta bioquímica: Cuando el PTC124 está leyendo a través de un codón de parada, que aparece cuando un codón de aminoácidos tiene una de sus tres letras genéticas cambiadas por la mutación, este codón ya no se utiliza para la síntesis de proteínas. ¿Entonces la distrofina o la proteína CFTR de la fibrosis quística sólo tienen un aminoácido menos?*

Oh, no. Cuando el ribosoma, el cual hace una proteína de la traducción de un ARN mensajero, llega a un código de terminación prematuro, se detendrá y, por tanto, producirá una proteína acortada. El PTC124, cuando está presente, no causa que el ribosoma salte el codón de parada prematuro, sino que le permite poner otro aminoácido, que por lo general se tolera bien a menos que cambie una parte fundamental de la proteína. Pero, en general, no es un problema. El codón de parada no es omitido como un exón como en la omisión de exón. Otro aminoácido es puesto en su lugar.

¿Se sabe cómo funciona el PTC124 a nivel molecular?

El mecanismo molecular exacto se desconoce, pero podemos suponer y en general entendemos lo que el PTC124 hace. La FDA no requiere que sepamos el mecanismo exacto para mover el PTC124 adelante.

Usted tiene probablemente que probar si el PTC124 no hace nada más que sólo leer a través de las paradas prematuras. ¿Están seguros de que realmente no hace otra cosa en cualquier otro de nuestros cerca de 20,000 genes? Y ¿por qué no lee a través de las paradas normales?

No hemos analizado todos los otros 20,000 genes. Lo que se busca es determinar si el PTC124 también podría leer a través de un codón normal de terminación al final del ARN mensajero. Por lo tanto, comprobamos una serie de genes para ver si el PTC124 a veces hace la proteína larga, hace una extensión. Pero no hemos encontrado nada, no hay extensiones. A continuación, se aplicó el PTC124 en dosis extremadamente altas a ratas y perros y se verificaron diferentes tejidos - cerebro, corazón, intestinos - para ver si en la vida animal el PTC124 estaba leyendo a través de los codones de terminación normales. Una vez más, no hemos visto nada. Por lo tanto, se confía en que el PTC124 estaba actuando suficiente específicamente sólo en paradas prematuras.

¿Por qué es esto? El ARN mensajero no es una estruc-

tura recta. Es realmente un círculo así que el inicio del ARN interactúa con su final. Y cuando el ribosoma llega al codón de terminación normal, está más cerca al inicio del ARN. Pero un codón de parada prematuro aparece cuando una mutación sin sentido aparece en un codón de aminoácidos en una región donde el ribosoma traduce y hace la proteína. Por lo tanto, los dos tipos de codones de parada, el normal, y el prematuro, se encuentran en un entorno muy diferente. Y eso es lo que hace el PTC124 tan específico, es muy, muy se-lectivo.

Proyecto Catálisis. *Por favor, ahora explique lo que están haciendo en el Proyecto Catálisis.*

Lee Sweeney fue actualmente el que sugirió que PTC trabajara con **Pat Furlong**, la presidente del PPMD, en el Proyecto Catálisis con el fin de identificar otros fármacos contra Duchenne, sobre los objetivos que debería aumentar o disminuir proteínas.

Como usted explica en su informe, trabajamos ahora en cinco objetivos, pero lo hemos utilizado para trabajar en seis hasta hace poco. Sin embargo, a uno de ellos, el fosfolamban, que fue para mantener la función cardíaca, no hemos podido hacer cambios químicos para la optimización del mismo. Así que lo hemos abandonado y ahora estamos tratando de aumentar a su similar de unión, el SERCA2a, el cual mejoraría la función contráctil del músculo cardíaco. Dado que muchos pacientes tienen problemas cardíacos, algunos incluso muy pronto, pensamos que si vamos a hacer una mezcla de fármacos, un cóctel terapéutico, necesitaríamos algo que tenga un efecto positivo cardíaco. Los demás objetivos en que estamos trabajando son aumentar el factor de crecimiento específico al músculo IGF1 y disminuir la miostatina. Entonces, queremos hacer la membrana muscular más fuerte, por lo que esperamos sustituir a la distrofina por el aumento de la utrofina. Y más integrina alfa-7 que estabilizaría la membrana desde el exterior.

¿Los objetivos que ustedes han elegido para el Proyecto Catálisis, se podrían aplicar al 100% de los chicos, y no como el PTC124 a sólo el 13% de ellos?

Sí, lo será para todos los muchachos. Y probablemente podrían combinarse con PTC124. ¿Por qué no?

Detección automática de fármacos. *Ahora llegamos a la detección automática. Debemos decirle a las familias cómo este tipo de ciencia es realmente hecha. En las películas con científicos, ellas normalmente muestran algo en ebullición o vierten algún líquido de un tubo de ensayo a otro. Ahora es tan diferente con un montón de trabajo informático y otras técnicas electrónicas. ¿Puede decir algo al respecto sin ser demasiado técnico?*

Nuestro enfoque para el descubrimiento de medicamentos, al igual que en las grandes empresas, es buscar una aguja en un pajar. Tenemos una "biblioteca", una colección de poco de alrededor de 200,000 sustancias. Uno puede comprarlas de empresas especializadas en colectarlas o hacerlas. Seleccionamos de sus catálogos aquellas que tienen ciertas propiedades como de fármaco. En general, las queremos en forma de polvo; deben ser solubles en agua, y el tamaño de sus moléculas deben ser de menos de 500 unidades de masa atómica, es decir, una de sus moléculas debe pesar menos de 500 átomos de hidrógeno. Y hay otras propiedades que estamos buscando.

Recibimos estos polvos en vías, pero guardados en refrigeradores y placas. Estas son bandejas transparentes de plástico rectangular, alrededor de 6 veces 10 cm, con 96 pozos, como pequeños tubos de ensayo. Las máquinas de detección automática de alto caudal entonces transfieren algunos de los contenidos de cada cuatro de estas placas de 96 pozos en grandes placas con 384 pozos, y los utilizan para el procedimiento de detección.

Los pozos están etiquetados con códigos de barras para identificar su contenido. La máquina lee los códigos de barras y mantiene un registro de los compuestos a través del procedimiento de prueba. Esto es importante porque después de los resultados de la prueba se encuentran, debe ser posible encontrar a los pozos que contienen los "éxitos" sustancias que mostraron la actividad deseada. A continuación, puede obtener más del material de los éxitos para seguir los procedimientos químicos.

Ahora, vamos a explicar qué tipo de procedimiento de prueba la máquina de detección utiliza para encontrar los éxitos, aquellas sustancias, que después de la optimización, pueden más tarde ser capaces de modificar los cinco objetivos seleccionados. Como no es práctico medir las actividades biológicas de los objetivos propios, por ejemplo, el aumento de la utrofina o la disminución de la miostatina, estamos usando un solo marcador bioquímico, un indicador que puede utilizarse en su lugar de determinar la actividad de todos los cinco objetivos, y que también nos ayudó a encontrar el PTC124. Este marcador es la enzima luciferasa, que normalmente produce la luz de las luciérnagas. Para nuestras pruebas, combinamos los genes del objetivo con el gen de la luciferasa de tal manera que el aumento o disminución de las moléculas objetivo en las células musculares aisladas de algunos de los miles de compuestos probados también causan un correspondiente aumento o disminución de la luciferasa. Es mucho más fácil medir la intensidad de la luz producida por esta enzima de luciérnagas que medir los resultados de una complicada reacción biológica.

Para hacer realidad la prueba de detección, una persona coloca las células musculares en la máquina de detección de alto caudal. Luego apila toda una serie de los 384-pozos de las placas, ya que contienen las sustancias que se han probado en sus pozos, a la entrada de la máquina. La máquina toma una placa tras otra cada pocos segundos, se llena cada pozo con algunas de las células musculares y, a continuación, dejan a las sustancias que deben analizarse reaccionar con las células durante un cierto tiempo a una cierta temperatura: "se incuban". Al final de la reacción, una cámara bastante grande toma una imagen de la luz de luciérnagas de todos los pozos de toda una placa y envía las lecturas de intensidad de la luz a un ordenador para calcular los resultados finales y el registro de ellos.

Optimización de los compuestos activos. *Y ahora, ¿cómo llegan ustedes a los aciertos, y cómo están procesándolos más a fondo?*

Al final de una prueba de funcionamiento, tenemos muchas placas que tienen algunos compuestos activos en ellos, los aciertos. Para llegar a ellos, utilizamos el llamado recogedor de cerezas, con el que la máquina toma una pequeña cantidad de la respuesta positiva de su pozo y la transfiere al pozo de una nueva placa. Esta nueva placa contendrá sólo aciertos, y luego repiten la detección prin-

cipal de estos aciertos para confirmar que la actividad aún está allí. Si ese es el caso, generar una curva de concentración por probar diferentes cantidades de la sustancia acierto que se utilizó en la primera prueba. Si vemos una buena dosis-respuesta, es decir, más actividad con más sustancia, estamos seguros de que este acierto es ya un poco a un fármaco del principio.

¿Qué tantos aciertos ustedes consiguen?

Por lo general, tendremos alrededor de 1,000 a 2,000 aciertos de compuestos tomados de 200,000 sustancias probadas. Y por lo general alrededor de un 50% da respuestas de dosis reproducibles.

Y ahora, estamos haciendo ensayos secundarios. Para ello utilizamos la verdadera reacción biológica del objetivo, no la prueba de luciferasa, para ver si tal es un acierto reproducible y no sólo es activo en la prueba de selección, y es verdad que regulan la actividad de la proteína objetivo. Sólo un 20 a un 50% del resto de los compuestos será confirmado de esta manera. Sólo queremos asegurarnos de que realmente está haciendo lo que queremos.

Y ¿será entonces optimizado?

Sí, porque ahora la química comienzan a involucrarse. El primer paso es determinar si realmente estos compuestos tienen propiedades que les permitirán ser convertidos en fármacos. Comprobamos su toxicidad en cultivos celulares, y aseguramos que pueden ser fácilmente sintetizados. Si son productos naturales, podría ser demasiado complejo. Comprobamos si son solubles en agua lo suficiente para que sean fácilmente absorbidos y disueltos una vez que entran en el estómago. En general, seguimos las directrices conocidas para las propiedades de los posibles compuestos farmacológicos. Los químicos luego regresan a nuestra biblioteca y buscan compuestos que tienen una estructura molecular similar, como acierto activo y prueban de nuevo. Luego empiezan a volver a sintetizar las moléculas, confirman su actividad y, por último, modifican su estructura, que puede o no aumentar su actividad. Al final de este trabajo, que puede tardar varios años, tal vez han pasado de 100 compuestos de todo el camino a unos 5 a 10 realmente prometedores para cada uno de los objetivos. Este es un riesgo muy severo para venirse abajo.

¿Qué tantos fármacos potenciales optimizados o a-ser-optimizados para cada uno de los cinco objetivos del Proyecto Catálisis tienen ustedes ahora? Y ¿Cuánto tiempo se tardara hasta que las pruebas clínicas con pacientes con DM Duchenne se puedan iniciar?

Actualmente se han identificado varias moléculas de interés para cada objetivo. Estamos en el proceso de pruebas de estas moléculas en modelos animales de la enfermedad. Tenemos que seguir para optimizar estas moléculas hasta que estemos satisfechos con su actividad y seguridad. Hay muchos pasos entre ahora y las pruebas clínicas, por lo que es difícil predecir cuando entrará a pruebas clínicas en este momento, pero será de varios años como mínimo.

La prueba internacional del PTC124. *Ahora volvamos al PTC124. Los detalles de su prueba a largo plazo internacional se describen en mi último informe (véase el anexo a esta entrevista). En resumen, 165 pacientes en tres grupos serán tratados durante 48 semanas con dos dosis de PTC124 y placebo. ¿Este juicio ha sido iniciado?*

Se inició en 38 sitios y en alrededor de 20 seleccionan

pacientes ahora. Tenemos un comité directivo encargado de supervisar la prueba y evaluar los resultados. En Europa, los Dres. **Kate Bushby** en Newcastle y **Thomas Voit** en París pertenecen a ella y en los EUA los Dres. **Valerie Cwik** de la MDA y **Giovanna Spinella** del PPMD. Todos los pacientes serán tratados durante casi un año. Después de eso, todos los muchachos, así como aquellos que fueron a placebo, serán capaces de recibir el fármaco durante la extensión del estudio, probablemente la dosis más alta, 80 mg/kg/día en tres porciones diarias de 20, 20 y 40 mg/kg.

Los resultados finales probablemente estarán disponibles en el invierno o la primavera de 2010. De este modo, podremos presentar una NDA, una nueva aplicación de fármaco, con la FDA aproximadamente dos años a partir de hoy. Dado que vamos a tener un acelerado proceso de aprobación, hay que anticipar, aunque no hay ninguna garantía, de que vamos a obtener la aprobación dentro de unos seis meses posteriores. Por supuesto, hay muchas cosas que pueden salir mal y evitar la aprobación.

¿Por lo tanto, pueden esperar la aprobación a finales de 2010?

Sí, a finales de 2010. Y también vamos a presentar a la EMEA, la agencia europea médica, para los países europeos. Para muchos otros países, vamos a tener que involucrarnos en sus procesos de regulación. Pero gran parte de esto se hará en colaboración con nuestro nuevo socio, Genzyme, que es una empresa mucho más grande que PTC y que tiene operaciones en diferentes países del mundo.

¿El PTC124 será costoso?

Sería prematuro especular sobre los precios del PTC124 en este momento. En este momento nos estamos concentrando en hacer la prueba. Cuando sepamos que el medicamento funciona y es seguro, entonces podremos hablar de ello.

¿Qué es el PTC124? *Una última pregunta: ¿Qué significa PTC124?*

PTC es la abreviatura de "control post transcripcional en inglés" y 124 proviene de su nombre químico. Se trata de un 1,2,4-oxidiazol, que consiste en un anillo de cinco miembros con dos carbonos, un oxígeno y dos átomos de nitrógeno relacionadas con dos anillos de benceno que transportan dos pequeñas cadenas laterales. La estructura se menciona en detalle en la publicación *Nature* 2007, y, obviamente, está patentada.

Como una introducción a la entrevista, dos capítulos acerca del PTC 124 y el Proyecto Catálisis se reproducen aquí, que son parte de mi último informe, "Enfoques de Investigación para una Terapia de la Distrofia Muscular Duchenne", publicado en mayo de 2008. La totalidad del informe junto con los tres anteriores en Inglés, Alemán, Español y pueden ser vistos en www.duchenne-information.eu en Internet. En estos informes, las bases bioquímicas y hechos genéticos de la distrofia muscular Duchenne se explican también. Los que deseen recibir mis futuros informes y entrevistas tan pronto como estén listos deben enviarme su dirección de correo electrónico a gscheuerbrandt@t-online.de.

Leer a través de los codones de parada prematuros con PTC124. Cerca del 13 a 15 % de los pacientes con Duchenne tienen una mutación sin sentido en su gen de la distrofina. Este tipo de mutación es un cambio de un solo punto que resulta en la introducción de un codón de parada prematuro en el ARNm de la distrofina. Tal codón de parada prematuro causa que la síntesis de la proteína se detenga prematuramente antes que la nueva distrofina sea ensamblada completamente. La distrofina incompleta es demasiado corta para cumplir su función normal, es destrui-

Algunas palabras finales. *Creo que es tiempo de algunas palabras de aliento para las familias al final de esta entrevista.*

Por supuesto, estamos entusiasmados con los avances que hemos logrado con el PTC124. Estamos tratando de avanzar lo más rápido que podemos para llegar a todos los chicos con Duchenne que lo necesitan. También estamos entusiasmados con las perspectivas del Proyecto Catálisis. Para los chicos que no tienen una mutación sin sentido, es importante traer estos otros fármacos con interés para ellos, para el 100% de ellos. Por supuesto, también estamos trabajando tan rápido como podemos para terminar estos posibles fármacos. Su desarrollo será mucho más rápido que para el PTC124, porque su trayectoria clínica no es muy diferente, y tenemos más experiencia ahora. Pero también dependerá de los resultados de la presente prueba internacional del PTC124.

Hemos concentrado mucho de nuestro esfuerzo en la identificación y desarrollo de compuestos que pudieran tratar diferentes enfermedades musculares, específicamente la distrofia muscular Duchenne, pero también la atrofia muscular espinal y la distrofia miotónica, y seguir trabajando en la fibrosis quística. Esto nos distingue de las grandes compañías farmacéuticas que centran gran parte de su esfuerzo en fármacos de estilo de vida. Sin embargo, PTC hace todo lo posible para encontrar terapias para tal vez no muy frecuentes enfermedades realmente graves, pero que son difíciles de tratar. Esto es, y sigue siendo, importante para todos nosotros.

Cuando me refiero y escribo a las familias con distrofia muscular Duchenne, me doy cuenta de lo real que son los problemas. Si lo comparo con mis problemas de la vida diaria, entiendo que son problemas que puedo resolver, incluso si son difíciles, pero no son nada contra los problemas de tener un niño con distrofia Duchenne de los cuales uno tiene que cuidar muchos años.

Creemos que esto es también la motivación para nuestros investigadores a trabajar en una enfermedad como esa. Esto hace que nuestra labor sea significativa y posiblemente parte de la historia.

Muchas gracias, en nombre también de muchas familias y de todo el mundo que van a leer lo que han explicado a todos nosotros

da, y la distrofia muscular Duchenne se desarrolla.

PTC Therapeutics en South Plainfield, Nueva Jersey, bajo la dirección del Dr **Langdon Miller** - desarrolló el fármaco, *PTC124*, que permite al sistema creador de proteína en la célula leer a través de tal codón de parada prematuro en el ARNm, para que la proteína de largo complejo pueda ser hecha. Tal tratamiento es diferente de la terapia génica u omisión de exón. Para determinar si un niño con distrofia muscular Duchenne puede beneficiarse del PTC124, la presencia de una mutación de parada pre-

tura - TGA, TAG, o TAA – en uno de los exones del gen de la distrofina debe ser demostrada por análisis genético.

Detalles sobre este nuevo fármaco, incluyendo su estructura molecular, han sido publicados en la revista *Nature* en Mayo del 2007 con un comentario. El PTC124 es un polvo cristalino blanco que puede ser tomado por vía oral después de mezclarse con agua o leche. El PTC 124 fue descubierto usando un programa automático de búsqueda, en el que cerca de 800,000 compuestos de bajo peso molecular se probaron por su habilidad de leer a través. Uno de los más eficaces entre los compuestos activos, el PTC124, fue optimizado químicamente y luego extensamente probado en el laboratorio. En los experimentos pre-clínicos en cultivos de músculo, distrofina fue producida. En ratones mdx, que tienen un codón de parada prematuro en su exón 23 de su gen de la distrofina, fue mostrado que el PTC124 inducía la producción de distrofina de largo completo, resultando en la reducción del daño durante la contracción muscular, y reducción de la actividad de la creatina kinasa en la sangre. Por lo tanto, el PTC124 puede ayudar a las células de musculares para superar una de las causas genéticas de la distrofia muscular Duchenne.

El PTC124 no lee a través de los codones de parada normales que tienen un ambiente estructural diferente comparado con los codones de parada prematuros. Los estudios de toxicidad en ratones, ratas, y perros con dosis altas del fármaco han indicado un perfil aceptable para el desarrollo clínico continuado del fármaco.

Una fase I de prueba clínica con el PTC124 fue realizada en 61 voluntarios adultos sanos de 18 a 30 años de edad quienes recibieron el fármaco 3 veces al día durante 2 semanas. Con este tratamiento, concentraciones de plasma de 2 a 10 microgramos/ml pudo ser mantenida como se sabía era activa en ratones mdx. Dosis de hasta 100 mg/kg/día fueron toleradas bien por estos adultos sanos sin efectos secundarios serios. Esta es una dosis mayor que la planeada a ser dada a niños con Duchenne.

Estos resultados respaldaron el inicio de una fase-II de estudio clínico con chicos con Duchenne, el cuál fue realizado entre diciembre del 2005 y mayo del 2007, y donde participaron 38 chicos, de 5 a 17 años. Eran un grupo representativo de pacientes, 33 todavía podían caminar, 29 recibían corticoides, 26 tenían el codón de parada UGA, 6 el UAG, y 6 el UAA entre los exones 6 a 70. La prueba no fue diseñada para producir ningún beneficio terapéutico. Seis niños recibieron 16 mg/kg/día de PTC, 20 niños 40 mg/kg/día, y 12 niños 80 mg/kg/día divididos en 3 porciones por día. Los pacientes fueron valorados clínicamente por más de 21 días antes del tratamiento, entonces recibieron el fármaco por 28 días y finalmente seguían exámenes durante 28 días.

Biopsias musculares fueron realizadas antes y después del tratamiento en los músculos del pie *extensor digitorum brevis* (EDB) para buscar la restauración de la producción de distrofina de largo completo. Antes del tratamiento, el tejido muscular de su biopsia inicial fue tratado con PTC 124 en el laboratorio. Los aumentos esperados dependientes de la dosis en la cantidad de distrofina de largo completo fueron detectados en los tejidos de todos los niños cuando se probaron en el laboratorio.

Los análisis del tejido muscular de las biopsias después del tratamiento detectaron en 19 de los 38 niños, aumentos cualitativos de nueva distrofina expresados en niveles bajos. Las razones principales por qué nueva distrofina no fue encontrada en todos los chicos y no en grandes cantidades, podría ser que el período de tratamiento fue demasiado corto y que el músculo EDB no era probablemente el mejor a ser analizado porque tenía tal nivel bajo de la degeneración y la regeneración. Sin embargo, todos chicos mostraron una reducción del nivel de CK sanguíneo durante el tratamiento. La CK sanguínea aumentó otra vez después del tratamiento como era esperado para un fármaco que tenía que ser tomado constantemente.

Algunos padres y profesores observaron que 2 a 4 semanas después del algo corto tratamiento, los niños mostraron mayor actividad, incrementaron la resistencia, y menos fatiga que antes del tratamiento. Mientras estos resultados anecdóticos deben ser considerados cuidadosamente, el tiempo del curso de los cambios sintomáticos indicaba un efecto del fármaco. Algunos efectos adversos leves o regulares fueron observados, pero éstos no eran claramente causados por el PTC124 y no son clínicamente relevantes.

Para comprender el riesgo a largo plazo y los beneficios del PTC124, una prueba clínica fase-IIb a largo plazo controlada aleatoriamente está siendo empezada ahora. Esta prueba inscribirá a 165 pacientes que al menos tengan 5 años de edad y todavía caminen (capaz de recorrer más de 75 metros). Niños que están con corticosteroides serán permitidos para continuar ese tratamiento. Los participantes serán seleccionados aleatoriamente en uno de 3 grupos de estudio: alta dosis de PTC124, baja dosis de PTC124, o placebo. El tratamiento continuará durante 48 semanas. El resultado de medición principal será la distancia en la que los niños pueden caminar 6 minutos, comparando los resultados antes del tratamiento con la misma medición durante el tratamiento. Habrá 10 mediciones de resultado secundarias adicionales. Después del término de la prueba, todos los pacientes, incluyendo éstos que estaban con placebo, recibirán terapia a largo plazo con la dosis más alta de PTC124.

Para esta prueba, un comité directivo internacional ha sido establecido que organizará y supervisará la colaboración de muchos centros clínicos en Europa, Australia, Israel, Canadá y los Estados Unidos. La Dra. *Kate Bushby* y *Thomas Voit* son los expertos europeos en distrofia muscular Duchenne que están participando en el comité directivo. La prueba está en curso en los EUA y será pronto abierta en otros países. Si esta prueba grande fase-IIb indica buenos efectos terapéuticos, la aprobación de comercialización será pedida a las agencias reguladoras FDA en los Estados Unidos y EMEA en Europa.

Welch EM, Barton ER, Zhuo J. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* 2007; 447:87-91.

Schmitz A, Famulok M. Ignore the nonsense. *Nature* 2007;447:42-3.

El Proyecto Catalisis es un programa de *PTC Therapeutics* para descubrir y desarrollar compuestos químicos pe-

queños como fármacos para una terapia de distrofia muscular Duchenne.

El Proyecto Catálisis, dirigido por la **Dra. Ellen Welch**, se creó en mayo del 2004 para identificar con métodos de búsqueda automáticos entre varios cientos de miles de compuestos aquellos que podían aumentar o disminuir la producción, la *expresión*, de cuatro objetivos biológicos en las células musculares y así, mantener y mejorar la estructura y función muscular en pacientes de Duchenne. La disminución de la *miostatina* y el aumento del *factor de crecimiento similar a la insulina* IGF-1 promoverían el crecimiento y regeneración muscular. El aumento de la *utrofina* e *integrina-alfa7* estabilizaría la membrana muscular y mejoraría la función muscular por lo tanto.

PTC Therapeutics, Inc.

100 Corporate Court
South Plainfield, NJ 07080, USA
Tel. *1-908-222-7000
Email: patientinfo@ptcbio.com
Internet: www.ptcbio.com

Traducción al Español:

Ricardo Rojas C.

Email: distrofiasmusculares@yahoo.com.mx
Internet: www.distrofia-mexico.org

El apoyo financiero de TREAT-NMD Red Europea Neuromuscular y del Parent Project Muscular Dystrophy PPMD para visitar PTC Therapeutics en Nueva Jersey, la escritura y edición de esta entrevista, así como mis informes de investigación en Duchenne se agradece.

TREAT-NMD Neuromuscular Network

Institute of Human Genetics, Newcastle University
Newcastle upon Tyne, NE1 3BZ, UK
Email: info@treat-nmd.eu
Internet: www.treat-nmd.eu

Los métodos de búsqueda automáticos para encontrar estos fármacos potenciales para Duchenne, usan un nuevo procedimiento de prueba desarrollado que mide la intensidad de luz de una proteína reportera, la enzima luciferasa de luciérnagas. Un pequeño número de compuestos con al menos algunas de las propiedades deseadas han sido ahora optimizados en el laboratorio. Adicionalmente, trabajo fue iniciado en otra proteína objetivo, el retículo sarcoplásmico Ca²⁺ ATPasa (SERCA2a) para ayudar mantener la correcta función contráctil del corazón. Estos fármacos potenciales muy prometedores serán optimizados más adelante para que una fase I de estudio clínico con niños con Duchenne pueda empezar en un futuro próximo.

Guenter Scheuerbrandt, PhD.

Im Talgrund 2
D-79874 Breitnau, Alemania
Email: gscheuerbrandt@t-online.de
Internet: www.duchenne-information.eu

Parent Project Muscular Dystrophy

1012 North University Blvd.
Middletown, Ohio 45042, USA
Tel.: 001-513-424-0696,
Internet: www.parentprojectmd.org