



---

**Universidad de Valladolid**

Facultad de Medicina

Trabajo Fin de Grado

Curso académico 2016/2017

Grado en Medicina

**Farmacogenética en  
Fibrosis Quística**

**Autor:**

D. Javier Oraá Pérez

**Tutor:**

D. Juan José Tellería Orriols

## **TABLA DE CONTENIDOS:**

OBJETIVO PRINCIPAL .....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. PATOLOGÍAS COMUNES Y CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS .....	4
3. RELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO DEL CFTR .....	6
4. FÁRMACOS DIRIGIDOS CONTRA LOS DEFECTOS GENÉTICOS DE CFTR .....	8
4.1 TRATAMIENTOS PARA LAS MUTACIONES DE CLASE I .....	9
4.2 TRATAMIENTOS PARA LAS MUTACIONES DE CLASE II .....	11
4.3 TRATAMIENTOS PARA LAS MUTACIONES DE CLASE III .....	15
5. TERAPIA GÉNICA .....	16
DISCUSIÓN .....	16
CONCLUSIONES.....	18
BIBLIOGRAFÍA .....	20

## **OBJETIVO PRINCIPAL**

Revisar la información disponible sobre los avances en medicina personalizada para la fibrosis quística y los tratamientos disponibles encaminados a corregir el defecto causante de la enfermedad a nivel de proteína.

### Objetivos secundarios

- 1- Describir los 6 tipos o clases de mutaciones existentes en la actualidad en función del mecanismo por el que causan la enfermedad.
- 2- Comparar la terapia de reparación proteica con la terapia génica en la fibrosis quística.
- 3- Examinar los fármacos principales disponibles y su mecanismo de acción en los diferentes tipos de mutaciones.
- 4- Analizar la evidencia de efectividad de dichos fármacos en los pacientes con fibrosis quística.

## **1. INTRODUCCIÓN**

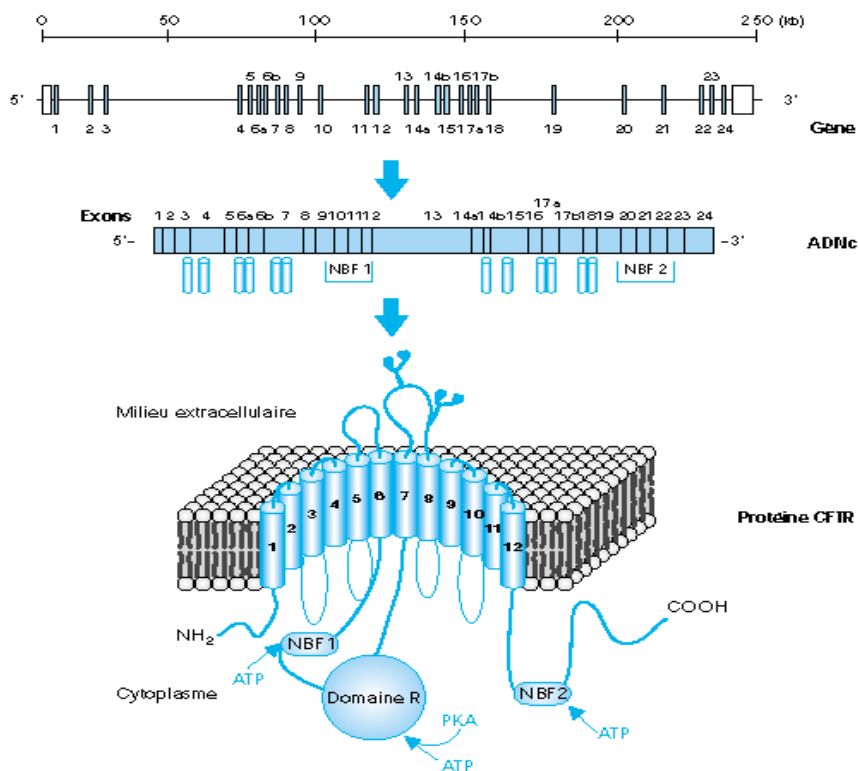
La fibrosis quística (a partir de ahora referida como FQ) fue descrita por primera vez en 1936 como una entidad separada. También recibía el nombre de “mucoviscidosis” debido a la acumulación de espesas secreciones mucosas que bloqueaban las vías aéreas, causando infecciones secundarias<sup>1</sup>. Ha sido una de las enfermedades monogénicas más visibles en los medios de comunicación desde el decenio de 1960<sup>2</sup>.

Se trata del trastorno genético autosómico recesivo mortal más frecuente en los niños de origen europeo occidental, con una incidencia de aproximadamente un caso por cada 2.500 recién nacidos vivos de raza blanca, siendo el estado de portador de aproximadamente un individuo por cada 25 personas<sup>2</sup>. La incidencia es mucho más baja en los afroamericanos (uno de cada 15.000) y en los asiático-americanos (1 de cada 31.000)<sup>1</sup>. La supervivencia de los pacientes con fibrosis quística ha mejorado gracias a los

avances en los cuidados respiratorios y nutricionales, alcanzando un promedio de esperanza de vida comprendido entre los 30 y 40 años<sup>3</sup>.

En 1989 se consiguió la clonación posicional del gen de la FQ, es decir, se localizó la posición del gen asociado a la enfermedad (que se denominó CFTR, por sus siglas en inglés *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) en el cromosoma 7q31.

Poco tiempo después en diversos estudios fisiológicos se demostró que la proteína codificada por el gen CFTR (Fig. 1) es un canal del cloro regulado que se localiza en la membrana apical de las células epiteliales afectadas por la enfermedad.



**Fig. 1:** Estructura del gen CFTR y representación esquemática de la proteína CFTR. (Imagen tomada de la página web: [http://www.jle.com/en/revues/met/e-docs/genetique\\_de\\_la\\_mucoviscidose\\_180269/](http://www.jle.com/en/revues/met/e-docs/genetique_de_la_mucoviscidose_180269/))

CFTR está formado, por tanto, por dos dominios transmembrana, dos dominios de unión de nucleótidos (NBD) citoplasmáticos y un dominio regulador (dominio R) que contiene lugares de fosforilación. Los dominios

transmembrana forman el canal y su activación está mediada por aumentos de AMPc, seguido de la activación de la proteína-kinasa A que fosforila el dominio R. La unión y la hidrólisis del ATP tienen lugar en el dominio de unión de nucleótidos, y es esencial para la apertura y cierre del canal en respuesta a la señalización mediada por AMPc. CFTR tiene un papel regulador sobre otros canales iónicos, incluyendo la inhibición del canal de sodio epitelial. Debido a ello, en las vías aéreas de los pacientes con FQ existe hiperabsorción de sodio. CFTR también actúa como un transportador de bicarbonato regulando el pH<sup>4</sup>.

## **2. PATOLOGÍAS COMUNES Y CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS**

La fibrosis quística (FQ) es una entidad heredable y crónica que afecta a múltiples órganos<sup>5</sup>. Los pulmones y el páncreas exocrino son los órganos afectados de manera más importante por la enfermedad. Sin embargo, una característica diagnóstica principal es el incremento de las concentraciones de sodio y cloro en el sudor<sup>2</sup>. La reducción o pérdida completa de la función del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), que regula la secreción de cloro y bicarbonato, interfiere en el correcto funcionamiento del epitelio en el que está presente<sup>5</sup>.

La enfermedad pulmonar de la FQ se debe a la producción de secreciones espesas y a las infecciones recurrentes<sup>2</sup>. Se precisa de un CFTR funcional para la adecuada hidratación de la superficie de la vía aérea. Aquellas personas con FQ son incapaces de licuar las secreciones mucosas de la vía aérea, por lo que, la persistencia de este suceso crea un nicho perfecto para ser aprovechado por un gran número de microorganismos. Los microorganismos colonizan la vía aérea, donde pueden persistir durante muchos años debido al fracaso del sistema inmunitario en su eliminación. Como consecuencia de ello, existe un estado inflamatorio continuo en la vía aérea provocando, finalmente, la aparición de destrucción de la arquitectura del tejido pulmonar en forma de bronquiectasias. A pesar de que el tratamiento intensivo de la enfermedad pulmonar prolonga la vida del paciente, el

fallecimiento se produce en última instancia debido a infecciones o a insuficiencia pulmonar<sup>5</sup>.

El defecto pancreático en la FQ es un síndrome de alteraciones digestivas debido a la deficiencia en la secreción de enzimas pancreáticas<sup>2</sup>. En el páncreas, CFTR está localizado en la superficie apical de las células de los conductos pancreáticos, donde se encargan de la secreción de bicarbonato. La deficiencia de CFTR dificulta el adecuado funcionamiento exocrino del páncreas, disminuyendo la calidad de las secreciones, las cuales sirven para concentrar las enzimas digestivas. Esto deriva en una oclusión ductal provocando insuficiencia pancreática que requerirá suplementos de enzimas digestivas para así evitar la malabsorción de nutrientes<sup>5</sup>. Sin embargo, aproximadamente un 5-10% de los pacientes con FQ presentan una función exocrina pancreática residual suficiente como para realizar una digestión normal. A esta forma de enfermedad se denomina fibrosis quística con suficiencia pancreática, con un pronóstico mejor que los pacientes con insuficiencia pancreática<sup>2</sup>.

Además, el déficit de CFTR puede ocasionar más patologías a nivel pancreático, se estima que más de un 50% de las personas diagnosticadas de FQ pueden padecer diabetes relacionada a fibrosis quística (DRFQ)<sup>5</sup>. Típicamente la DRFQ se diagnostica en la adolescencia tardía, con una edad media al diagnóstico comprendida entre los 18 y 25 años. La prevalencia es difícil de establecer y a menudo resulta infraestimada, dependiendo de los criterios diagnósticos y de monitorización que se utilicen. Se sabe que el principal factor fisiopatogénico es el déficit de insulina asociado a la disfunción de la célula  $\beta$  (CFTR se expresa en su superficie), aunque también influyen otros factores como la resistencia a la insulina, la alteración del funcionamiento de otras hormonas pancreáticas o la alteración del eje enteroinsular y del aclaramiento de la insulina<sup>3</sup>.

Asimismo, patología hepática también puede aparecer asociada a la FQ. En el hígado, CFTR está localizado en la superficie luminal de los colangiocitos de los canalículos biliares, donde participa en la producción de secreciones con bicarbonato, de la misma manera que en el páncreas<sup>5</sup>.

En los pacientes con FQ se pueden observar otros muchos fenotipos, por ejemplo, más del 95% de los hombres con FQ es infértil debido a la ausencia de conductos deferentes (agenesia congénita bilateral de los conductos deferentes)<sup>2</sup>.

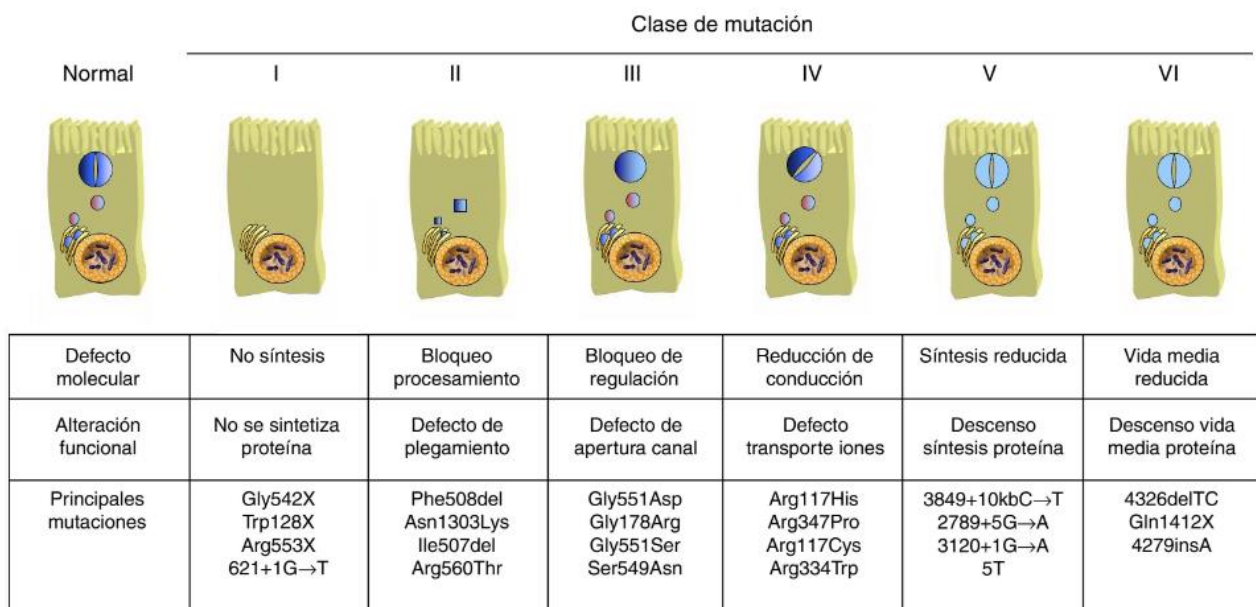
### 3. RELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO DEL CFTR

La FQ es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva, por lo que es necesario presentar la mutación en ambas copias del gen CFTR para estar afectado por la misma<sup>6</sup>. El Consorcio de Terapia Génica de la Fibrosis Quística fue fundado después del descubrimiento del gen CFTR, y tras ello, se creó una base de datos mantenida de las mutaciones de CFTR en el hospital de niños enfermos de Toronto (CFTR1). Esta base de datos contiene, aproximadamente, 2.000 mutaciones identificadas en el gen CFTR; si bien, algunas de estas mutaciones no conllevan enfermedad. Más recientemente, se ha desarrollado CFTR2 (de sus siglas en inglés *Clinical and Functional Translation of CFTR*). CFTR2 contiene información clínica y genética de mutaciones de unos 80.000 pacientes procedentes de 41 países. Esta base de datos provee información detallada sobre el genotipo-fenotipo de CFTR para 276 mutaciones. Las mutaciones de CFTR han sido clasificadas en CFTR2 como mutaciones causantes de fibrosis quística, mutaciones relacionadas con enfermedades asociadas a la fibrosis quística, mutaciones sin consecuencias clínicas conocidas y mutaciones con significado clínico incierto. CFTR2 es una fuente de información excelente para la comunidad de FQ, especialmente en los casos donde el diagnóstico de FQ puede ser complicado<sup>4</sup>.

La primera mutación descrita, y la más frecuente a nivel mundial, es la Phe508del, pero existen otras mutaciones específicas cuya frecuencia varía entre los distintos grupos étnicos. Las mutaciones descritas en la actualidad se clasifican en 6 tipos o clases (Fig. 2) en función del mecanismo por el que causan la enfermedad.

Las mutaciones de clase I conducen a un codón de parada prematuro en el ARN mensajero que impiden que la proteína se traduzca al completo. Por tanto, la proteína producida es corta y no funcionante. Las mutaciones de la

clase II codifican una proteína mal plegada estructuralmente anormal y que se elimina por el retículo endoplásmico antes de llegar a la superficie de la célula. A este grupo pertenece la mutación más común en la FQ, la Phe508del. En las mutaciones de las clases III a VI las proteínas llegan a la superficie de la célula, pero no funcionan adecuadamente. En el caso de las mutaciones de clase III tienen disminuida la activación del canal y permanecen cerrados. Las mutaciones de clase IV provocan una disminución de la conductabilidad de iones a través del canal. Las mutaciones de clase V codifican proteínas en menor cuantía que resulta en una cantidad reducida de CFTR en la superficie celular, por lo que se produce una cierta función, pero a un nivel disminuido. Finalmente, las mutaciones de la clase VI conducen a una vida media acortada debido a la inestabilidad de la proteína y también pueden dañar la regulación de los canales vecinos al CFTR en la superficie celular<sup>6</sup>.



**Fig. 2:** Tipos de mutaciones de la FQ<sup>6</sup>.

En pacientes heterocigotos para la fibrosis quística, el alelo con una mutación más “suave” es dominante fenotípicamente dando como resultado, generalmente, una enfermedad menos grave. La gravedad de la enfermedad, incluyendo mortalidad, se reduce en pacientes con al menos una mutación en clase IV o V. Los motivos por los que esto ocurre radican en las diferencias en la actividad de CFTR. Los pacientes con FQ con al menos una mutación de



CFTR en clase IV o V tienen mayor actividad residual de CFTR que aquellos pacientes con ambas mutaciones de CFTR en clases I-III. Es importante resaltar que debemos ser extremadamente cautos a la hora de predecir resultados basándonos exclusivamente en las clases de mutaciones, de modo que existen variaciones significativas en el fenotipo entre pacientes con la misma clase de mutación.

Se ha demostrado que la función pulmonar es menor en aquellos que poseen mutaciones de clase I-III. Las diferencias en la mortalidad entre pacientes con mutaciones de CFTR asociadas a una reducción severa de su función con aquellos que presentan mutaciones con función parcial ponen de manifiesto los potenciales beneficios que pueden llegar a lograrse a partir de la restauración de la función de CFTR. Desde este descubrimiento, los avances científicos orientados hacia una medicina personalizada en función de una mutación específica han sido considerables en los últimos años. La mejora en el entendimiento de la estructura primaria de CFTR, sus posibles mutaciones y las consecuencias funcionales que ellas producen ha dado lugar a la aparición de terapias dirigidas a conseguir la expresión o restauración de la función de CFTR<sup>4</sup>.

#### **4. FÁRMACOS DIRIGIDOS CONTRA LOS DEFECTOS GENÉTICOS DE CFTR**

En enero de 2012, la primera medicación (**ivacaftor** (VX-770)) dirigida a solucionar los defectos básicos de CFTR fue aprobada y está actualmente comercializada. El desarrollo de este tipo de tratamientos encargados de restaurar CFTR es consecuencia de los avances y el entendimiento de cómo las mutaciones de CFTR influyen en la producción y función de la proteína CFTR<sup>4</sup>.

Dentro del desarrollo de los fármacos reparadores de la proteína CFTR, se han identificado 3 grupos principales:

- En primer lugar, los supresores del codón de parada prematuro (mutación de clase I). Estos fármacos consiguen que no se

identifique este codón de parada prematuro, por lo que la proteína puede seguir su síntesis al completo.

- En segundo lugar, los denominados fármacos correctores del CFTR. Estos fármacos están diseñados para corregir el tráfico de la proteína con defectos en el plegamiento (mutación de clase II) hasta la membrana celular donde podría hacer su función casi con normalidad.
- En tercer lugar, los denominados potenciadores del CFTR. Estos fármacos tienen por diana la proteína CFTR que está en la superficie celular, con objeto de mejorar su función. Los fármacos potenciadores pueden actuar por tanto sobre las mutaciones de clases III, IV, V y VI.

Actualmente, están en investigación numerosas moléculas con uno u otro mecanismo, habiendo llegado ya a comercializarse algunas de ellas<sup>6</sup>.

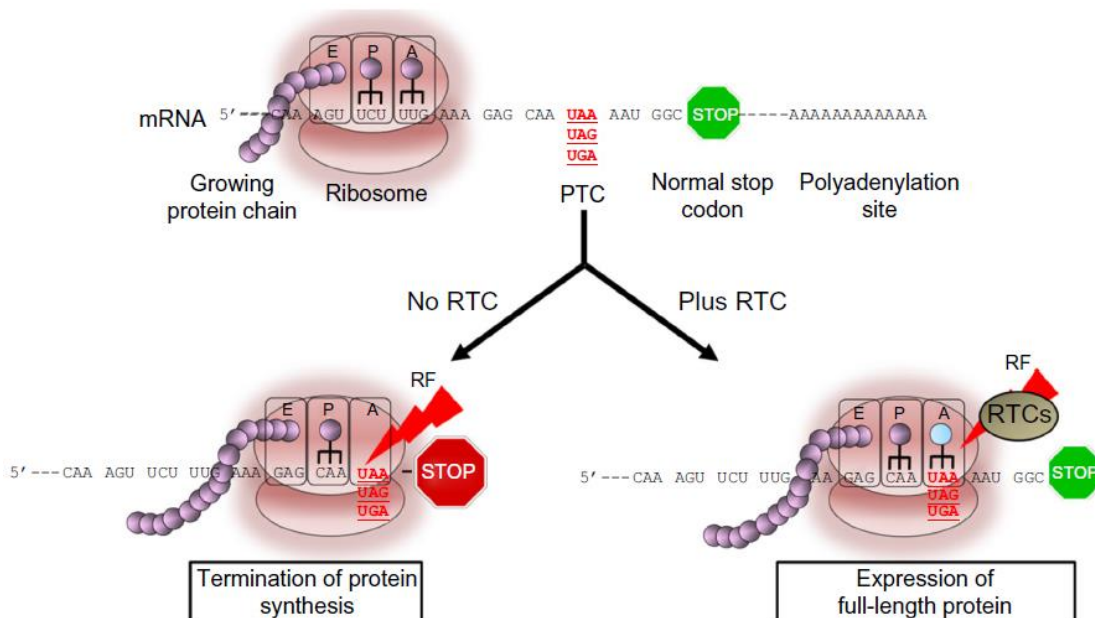
#### 4.1 TRATAMIENTOS PARA LAS MUTACIONES DE CLASE I

Aproximadamente un 10% de los casos de FQ son debidos a mutaciones de clase I<sup>6</sup>, es decir, a una producción errónea de CFTR a consecuencia de la aparición de un codón de parada prematuro (mutación sin sentido o *nonsense*). Esta mutación es predominante en pacientes descendientes de judíos Ashkenazis<sup>4</sup>.

Los aminoglucósidos fueron los primeros fármacos utilizados para esta clase de mutaciones. Los aminoglucósidos se unen tanto al RNA procarionta como al RNA eucariota reduciendo la fidelidad de la traducción. De esta manera el número de errores en la traducción aumenta enmascarando el codón de parada prematuro que evita la síntesis de la proteína CFTR. Hace varios años, se describió que la **gentamicina** posee dicha capacidad. Esto lo consigue mediante la inserción de un aminoácido que permite a los ribosomas continuar la lectura del gen produciendo una proteína de longitud completa. Estudios preclínicos demostraron que se podía sintetizar la proteína en un modelo animal de ratón y que in vitro se recuperaba un 35% de la función de la

proteína<sup>6</sup>. El efecto de la administración intravenosa de gentamicina en pacientes con FQ tuvo una respuesta positiva, pero se observó una considerable variabilidad en los resultados, de manera que el beneficio no era universal. Además, tanto la toxicidad renal como la ototoxicidad de los aminoglucósidos aportaban un perfil desfavorable<sup>4</sup>.

Una alternativa sintética la constituye un compuesto oral no aminoglucosídico, el **ataluren** (PTC-124). Ataluren es una molécula diseñada para que los ribosomas puedan leer la información genética “saltándose” el codón de parada prematuro y dando como resultado una proteína CFTR funcional (Fig. 3). La actividad farmacocinética del ataluren ha sido demostrada en modelos animales y en estudios clínicos fase II<sup>6</sup>.



**Fig. 3:** Actividad de lectura en las células eucariotas mediada por compuestos de lectura (RTCs)<sup>7</sup>.

En la Conferencia Americana de FQ de 2012 se comunicaron los resultados del ensayo clínico en fase III del ataluren. Un total de 238 pacientes fueron aleatorizados para tomar ataluren o placebo cada 8h. El ensayo clínico duró 48 semanas e incluyó a pacientes de ambos sexos mayores de 6 años. Todos los participantes presentaban al menos una copia con una mutación del tipo *nonsense*. No hubo mejoría en diferentes variables clínicas tales como

calidad de vida, función pulmonar, exacerbaciones (brotes de enfermedad), niveles de cloro en sudor o peso, en aquellas personas que tomaron ataluren. Sin embargo, el ensayo clínico descubrió que el daño renal estaba más presente en aquellos a los que se les administró ataluren. Los investigadores del ensayo clínico analizaron, entonces, los resultados de una manera que no habían planificado previamente y compararon cómo el ataluren o el placebo afecta a los pacientes dependiendo de si usan o no trombamicina inhalada. Encontraron que en aquellos que no llevaban un tratamiento con trombamicina había una proporción de disfunción pulmonar menor y que ocurrían menos exacerbaciones en el grupo que tomaba ataluren frente al grupo placebo.

Por tanto, no encontraron evidencia suficiente para determinar el efecto positivo en aquellos pacientes con FQ tratados con ataluren<sup>8</sup>.

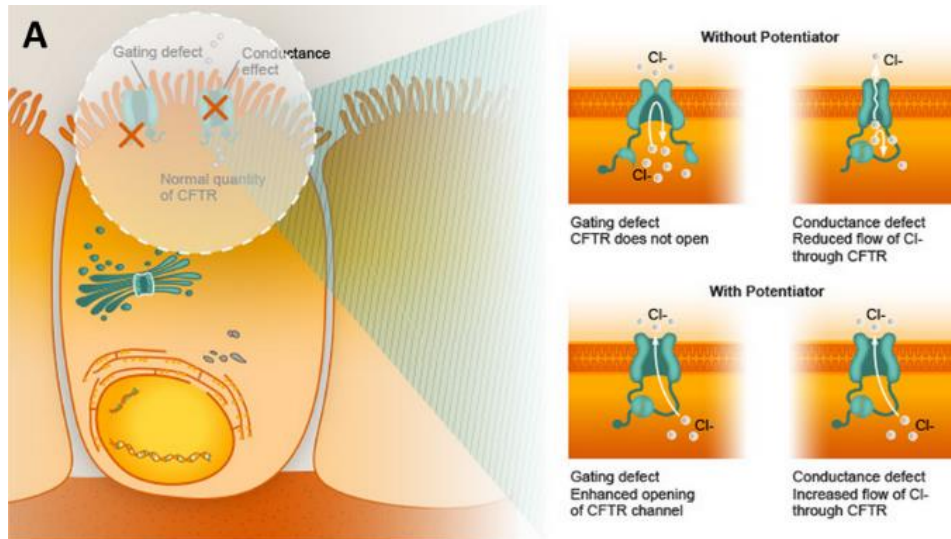
#### 4.2 TRATAMIENTOS PARA LAS MUTACIONES DE CLASE II

Las mutaciones de clase II están presentes en un elevado número de los pacientes con FQ, puesto que incluyen la mutación más frecuente de la enfermedad (Phe508del). Este hecho las convierte en un objetivo primordial de la investigación en FQ<sup>6</sup>. La mutación Phe508del posee propiedades de las mutaciones de clase II en las que existe un defecto del plegamiento. A mayores, dicha mutación presenta también características de las mutaciones de clase III (defecto de apertura del canal) y de clase IV (defecto en el transporte de iones).

Se han investigado los efectos de la molécula potenciadora del CFTR **ivacaftor** (VX-770), un fármaco para las mutaciones de clase III en pacientes homocigotos para Phe508del (Fig. 4)<sup>4</sup>.

El defecto de apertura del canal propio de las mutaciones de clase III fue estudiado para pacientes con mutaciones del tipo Gly551Asp y Phe508del, esta última en homocigosis. Se comparó la eficacia de ivacaftor frente a placebo en 4 ensayos clínicos en los que participaron 378 voluntarios. En tres de ellos, participaron 238 voluntarios con al menos una copia con la mutación

Gly551Asp. En el otro ensayo clínico participaron 140 voluntarios con la mutación Phe508del presente en las dos copias. Duraron entre 4 y 48 semanas.



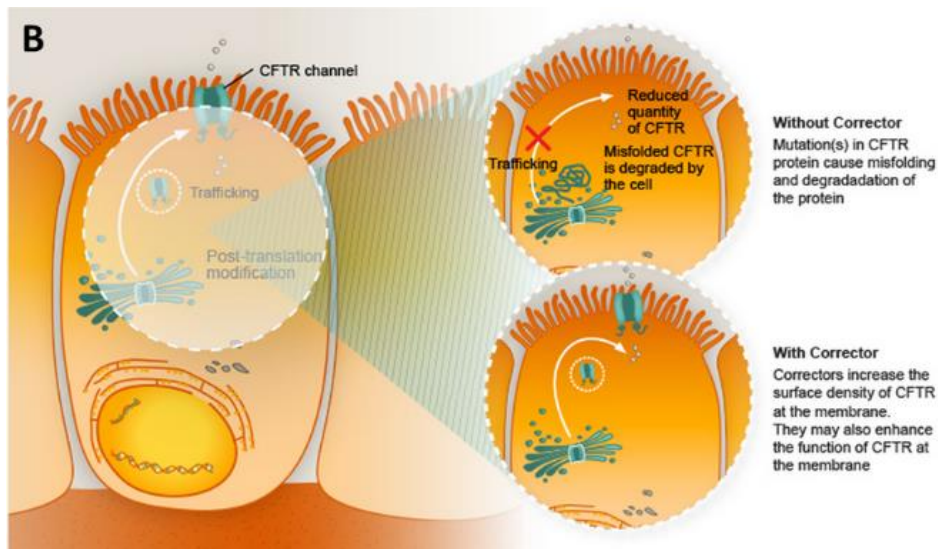
**Fig. 4:** Ivacaftor facilita el aumento del transporte de  $\text{Cl}^-$  potenciando la probabilidad de apertura del canal de la proteína G551D-CFTR. (Imagen tomada de la página web: <http://www.cftr.info>).

En ninguno de los ensayos clínicos hubo fallecimientos. Tanto niños como adultos con la mutación Gly551Asp que habían recibido ivacaftor mostraron mejoría de la función pulmonar ( $\text{FEV}_1$ ), pero únicamente los adultos presentaron *scores* con una mejor calidad de vida. Los participantes con la mutación Phe508del no mostraron mejoría en ninguno de estos dos aspectos. Los voluntarios con la mutación Gly551Asp del grupo placebo comunicaron un aumento de la tos y experimentaron más episodios de función pulmonar disminuida. Algunos adultos que tomaron ivacaftor presentaron episodios de sensación de mareo. Un número pequeño de voluntarios (con ambos tipos de mutaciones) a los que se les había administrado tanto ivacaftor como placebo abandonaron el ensayo debido a la aparición de efectos adversos (entre otros: problemas psicológicos, hepatopatías, insuficiencias respiratorias severas, fatiga, artritis,...). Otro grupo de niños y adultos con la mutación Gly551Asp experimentaron exacerbaciones respiratorias mientras tomaban placebo. El número de adultos que desarrollaron este tipo de complicaciones fue mayor en

el grupo placebo que en el grupo que tomaba ivacaftor. Los pacientes con la mutación Phe508del en homocigosis tuvieron un número similar de exacerbaciones en ambos grupos. Tanto adultos como niños con la mutación Gly551Asp a los que se les había administrado ivacaftor aumentaron de peso, lo que no ocurrió en pacientes con la mutación Phe508del.

La evidencia sugiere que el ivacaftor es un tratamiento efectivo para las personas mayores de seis años con FQ que poseen la mutación Gly551Asp, pero no para aquellos que presentan la mutación Phe508del<sup>9</sup>. La ausencia de beneficio terapéutico del ivacaftor hace necesario un fármaco que pueda hacer frente a este defecto de clase II además de mejorar la actividad de CFTR en la superficie de las células con la mutación Phe508del en homocigosis<sup>4</sup>.

Diferentes estudios indican que **lumacaftor** (VX-809) es el mejor candidato. Lumacaftor puede ayudar al movimiento de Phe508del-CFTR a la superficie de la célula (Fig. 5) e ivacaftor aumenta el tiempo de apertura y la conducción de cloro a través de la célula epitelial. La mejoría, por tanto, del defecto Phe508del subyacente podría ser posible con la combinación de ambas moléculas.



**Fig. 5:** Lumacaftor mejora la estabilidad conformacional de Phe508del-CFTR, lo que resulta en un mayor procesamiento y transporte de la proteína CFTR madura a la superficie celular. (Imagen tomada de la página web: <http://www.cftr.info>).

Los estudios in vitro de lumacaftor e ivacaftor asociados en epitelios respiratorios con mutación Phe508del han mostrado que lumacaftor aislado aumenta el transporte de cloro del CFTR un 15%, y además si se le añade ivacaftor el transporte aumenta a casi el 30%.

TRAFFIC y TRANSPORT, dos ensayos clínicos en pacientes de 12 años o mayores homocigóticos para la mutación Phe508del permiten valorar el tratamiento de lumacaftor junto con ivacaftor<sup>6</sup>. La variable principal que valoraron fue la variación absoluta del FEV<sub>1</sub> en 24 semanas. Otras variables secundarias que se tuvieron en cuenta fueron el índice de masa corporal (IMC), la frecuencia de exacerbaciones respiratorias, la calidad de vida y la variación relativa del FEV<sub>1</sub>. El valor absoluto del FEV<sub>1</sub> se incrementó entre un 2,6%-4% en el grupo tratado con ambos fármacos frente al tratado con placebo. Algo más clínicamente significativo fue la reducción de entre un 30-39% de las exacerbaciones pulmonares en el grupo tratado con ambos fármacos comparado con el tratado con placebo. El IMC también aumentó un valor absoluto de 0,24-0,28 kg/m<sup>2</sup> en el grupo tratado con ivacaftor más lumacaftor (Tabla 1). En el año 2016, la FDA y la EMA aprobaron la terapia combinada con **ivacaftor-lumacaftor** en pacientes mayores de 12 años con la mutación Phe508del en homocigosis<sup>4</sup>.

Trial	STRIVE	TRAFFIC/TRANSPORT
Drug	Ivacaftor	Ivacaftor + lumacaftor
Genotype	≥copy G551D	Phe508del homozygous
Treatment effect: absolute change FEV1	10.6%	2.6–4%
Treatment effect: relative change FEV1	16.9%	4.3–6.7%

**Tabla 1:** Resultados de los estudios del corrector y potenciador de CFTR<sup>4</sup>.

Otro compuesto corrector alternativo diseñado para tratar a las personas con fibrosis quística que portan la mutación Phe508del es el **tezacaftor** (VX-661). Tezacaftor tiene como objetivo restaurar la función del gen CFTR moviendo la proteína a la posición correcta en la superficie celular. Su eficacia se está ensayando de manera aislada y combinado con ivacaftor.

### 4.3 TRATAMIENTOS PARA LAS MUTACIONES DE CLASE III

**Ivacaftor** (VX-770) es un potenciador de la proteína CFTR que modula la función de la proteína anormal. Esta molécula fue originalmente diseñada como un potenciador de la función de CFTR en cultivo de epitelio respiratorio de células que llevan una sola mutación Gly551Asp. Es el primer fármaco que ha sido aprobado en EE.UU. y en Europa para el tratamiento de la FQ en pacientes con la mutación Gly551Asp. Se demostró in vitro la capacidad de ivacaftor para mejorar el transporte de cloro a través de la membrana celular. A partir de ahí, se han realizado 2 ensayos clínicos: el estudio STRIVE realizado en 144 pacientes de 12 o más años y el estudio ENVISION realizado en 52 niños de entre 6 y 11 años. Tras completar las 48 semanas de tratamiento se les ofreció a los pacientes continuar en un estudio abierto longitudinal, estudio PERSIST, durante 96 semanas.

En el estudio STRIVE los pacientes del grupo de ivacaftor presentaron una mejoría del 10,6% en el FEV<sub>1</sub> (objetivo primario del estudio). Además, se observó una disminución de la concentración de cloro en sudor, una mejoría de la calidad de vida, una reducción del 55% de las exacerbaciones y un aumento del peso de 2,7 kg.

Los resultados del estudio ENVISION son muy superponibles al estudio de los adolescentes y adultos, con la diferencia de que la calidad de vida no alcanzó la diferencia estadística. Los resultados del estudio PERSIST revelan mejoras en la función pulmonar (FEV<sub>1</sub>), los síntomas respiratorios y el aumento de peso entre pacientes que han sido tratados con ivacaftor<sup>6</sup>.

Para otras mutaciones de clase III distintas a Gly551Asp, el estudio KONNECTION ha demostrado recientemente beneficios similares que los mostrados en STRIVE y ENVISION, utilizándose ivacaftor en ocho mutaciones adicionales. Una novena mutación Arg117His (mutación de clase IV) ha recibido aprobación para el tratamiento con ivacaftor. Asimismo, otros potenciadores de CFTR están en desarrollo, incluyendo QBW-251 y GLPG1837<sup>4</sup>.



## **5. TERAPIA GÉNICA**

Para una proporción de pacientes no despreciable, la mutación de CFTR que poseen no responde ni a los fármacos correctores ni potenciadores de CFTR. Por esta razón otras alternativas de tratamientos son necesarias tales como el reemplazamiento de genes a través de la terapia génica de CFTR. Al ser una enfermedad monogénica, la FQ es un candidato ideal para este tipo de terapias. Tras el descubrimiento de CFTR en 1989, se demostró in vitro la transferencia retroviral del gen en células pancreáticas de un enfermo de FQ y la recuperación de los defectos de sus canales de cloro.

El camino hacia nuevas investigaciones en esta área está siendo muy desafiante. A pesar de la teórica facilidad de acceso al epitelio pulmonar, las propias defensas de la vía aérea (aclaramiento mucociliar) contra posibles patógenos invasores están bien diseñadas para mantener a los patógenos (y a los agentes de transferencia génica) a raya. Además, dosis repetidas de vectores virales se han asociado a la formación de anticuerpos neutralizantes por el sistema inmunitario. Asimismo, la secreción de moco espeso propio de la FQ actúa como barrera ante la liberación de genes. El uso de agentes de transferencia génica en forma nebulizada ha precisado de estudios detallados para conocer el mejor método de aerosolización de fármacos que permita obtener con el mayor rendimiento una alta liberación y fracción respirable.

Tanto vectores virales como no virales han sido estudiados. Dentro de los vectores virales se han ido utilizando adenovirus y otros vectores virales adeno-asociados. Es posible que el lentivirus (virus RNA) pueda desempeñar un papel importante al requerir una transcripción inversa del DNA que facilitará la persistencia del efecto terapéutico. Hay que resaltar, sin embargo, el riesgo de genotoxicidad que producen estos tipos de vectores<sup>4</sup>.

## **DISCUSIÓN**

La fibrosis quística (FQ) constituye un ejemplo de lo que podría ser una enfermedad bien situada para poder beneficiarse de la medicina personalizada. Se trata de una enfermedad monogénica, en la que una

alteración sobre un gen bien identificado es la responsable de su aparición; tiene una fisiopatología bien conocida con dianas terapéuticas bien identificadas; y el diagnóstico de la enfermedad precisa de tests genéticos que detectan la variedad de la enfermedad, permitiendo identificar el tipo de defecto genético en cada caso concreto.

A pesar del descubrimiento de este defecto genético hace más de dos décadas, los científicos se han enfrentado a importantes obstáculos a lo largo de todo el camino en la búsqueda y desarrollo de terapias génicas específicas para los pacientes con fibrosis quística. Todo esto ha cambiado en los últimos años.

En la actualidad, dos enfoques muy diferentes tienen por objetivo corregir el defecto básico: la terapia génica, dirigida a corregir la alteración genética; y la terapia con moléculas, cuyo objetivo es corregir el defecto funcional a nivel de la proteína.

La terapia génica está explorando la forma de introducir copias normales del gen en las vías respiratorias de los pacientes con FQ. Dicho tratamiento consiste en la inserción de un vector recombinante viral al que se le extrae su ADN y se sustituye por el nuevo ADN terapéutico, de manera que este vector viral sirva de vehículo para insertar el ADN en la célula diana. Hasta el momento se han usado diversos tipos de virus como adenovirus o lentivirus. Además, también se han desarrollado partículas no virales como nanopartículas con ADN con capacidad para insertar ADN. Sin embargo, los resultados por el momento han sido pobres debido a que la duración de la expresión del gen introducido es corta con ambos tipos de vectores.

Por otro lado, la terapia dirigida a la restauración de la función de la proteína CFTR ha tenido más éxito. En los últimos años se ha comenzado a tener resultados sobre fármacos capaces de actuar directamente sobre la proteína CFTR. De hecho en enero de 2012 se comercializó en EE.UU. el primer fármaco capaz de corregir el defecto de las mutaciones Gly551Asp. Entre los principales fármacos dirigidos al restablecimiento de la proteína CFTR encontramos: **ataluren** (PTC124) es una molécula diseñada para que los

ribosomas se vuelvan menos sensibles a los codones de parada prematuros responsables de las mutaciones clase I; **lumacaftor** (VX-809) es un fármaco corrector que está dirigido a mutaciones de clase II, entre las que figura la más frecuente (Phe508del), con prometedores resultados; e **ivacaftor** (VX-770) es un fármaco potenciador que ha demostrado una buena eficacia para la mutación Gly551Asp de clase III en niños mayores de 6 años y adultos. Además, diversos ensayos están probando estos fármacos o la combinación de ellos para otras mutaciones genéticas menos frecuentes.

En los últimos 5 años, CFTR ha sido designado como una diana terapéutica. Ivacaftor es el primer fármaco que trata el defecto básico de la fibrosis quística, pero solo da respuesta a un escaso porcentaje de los pacientes. Es por ello que se precisan nuevos fármacos capaces de restaurar defectos de la proteína CFTR causados por mutaciones más comunes.

El futuro del tratamiento de la FQ es muy prometedor, ya que, existen numerosos ensayos clínicos en curso para comprobar la eficacia de nuevos correctores, potenciadores y otros agentes en determinadas mutaciones de CFTR, mejorando su producción y función. Es importante reconocer que estos avances no habrían ocurrido sin la participación de pacientes con FQ y familiares en estos complicados y largos ensayos clínicos.

## **CONCLUSIONES**

1. No se ha encontrado evidencia suficiente para determinar el efecto positivo del ataluren en aquellos pacientes con mutaciones de clase I.
2. La evidencia sugiere que el ivacaftor es un tratamiento efectivo para las personas mayores de seis años con FQ que poseen la mutación Gly551Asp (clase III), pero no para aquellos que presentan la mutación Phe508del (clase II).
3. La terapia combinada con ivacaftor-lumacaftor incrementa el FEV<sub>1</sub>, reduce las exacerbaciones pulmonares y aumenta el IMC de manera significativa en pacientes mayores de 12 años con la mutación Phe508del en homocigosis.

4. Actualmente, la eficacia del tezacaftor se está ensayando de manera aislada y combinado con ivacaftor en pacientes con mutaciones de clase II.
5. Ivacaftor ha demostrado recientemente beneficios similares en otras ocho mutaciones de clase III distintas a Gly551Asp y en una mutación de clase IV (Arg117Hist).
6. La terapia génica está explorando la forma de introducir copias normales del gen en las vías respiratorias de los pacientes con FQ mediante vectores, tanto virales como no virales. Sin embargo, los resultados por el momento han sido pobres debido a que la duración de la expresión del gen introducido es corta con ambos tipos de vectores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Turnpenny P, Ellard S, Emery. Elementos de Genética Médica. 13a ed. España: Elsevier; 2009.
2. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson. Genética en Medicina. 7a ed. España: Elsevier; 2008.
3. Megías MC, Albarrán OG. Cystic fibrosis-related diabetes: A distinct condition. *Endocrinología y Nutrición* [citado 29 Mayo 2017]. 2015; 62: 38-44. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-endocrinologia-nutricion-12-articulo-diabetes-fibrosis-quistica-una-entidad-S1575092214002010>
4. Carter SC, McKone EF. Pharmacogenetics of cystic fibrosis treatment. *Pharmacogenomics*. 2016; 17: 1453-1463.
5. Murphy MP, Caraher E. Current and emerging therapies for the treatment of cystic fibrosis or mitigation of its symptoms. *Drugs in R&D*. 2016; 16: 1-17.
6. Quintana-Gallego E, Delgado-Pecellín I, Acuña CC. CFTR protein repair therapy in cystic fibrosis. *Archivos de Bronconeumología* [citado 29 Mayo 2017]. 2014; 50: 146-150. Disponible en: <http://www.archbronconeumol.org/es/tratamientos-reparadores-proteina-cftr-fibrosis/articulo/S0300289613002317/>
7. Namgoong JH, Bertoni C. Clinical potential of ataluren in the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Degenerative neurological and neuromuscular disease* [citado 29 Mayo 2017]. 2016; 6: 37-48. Disponible en: <https://www.dovepress.com/clinical-potential-of-ataluren-in-the-treatment-of-duchenne-muscular-d-peer-reviewed-fulltext-article-DNND>
8. Aslam A, Sinha IP, Southern KW. Ataluren and similar compounds (specific therapies for premature termination codon class I mutations) for cystic fibrosis. *The Cochrane Library* [citado 29 Mayo 2017]. 2016. Disponible en: [http://www.cochrane.org/CD012040/CF\\_ataluren-and-similar-compounds-specific-therapies-premature-termination-codon-class-i-mutations](http://www.cochrane.org/CD012040/CF_ataluren-and-similar-compounds-specific-therapies-premature-termination-codon-class-i-mutations)
9. Patel S, Sinha IP, Dwan K, Echevarria C, Schechter M, Southern KW. Ivacaftor (marketed as Kalydeco®), a new specific therapy for cystic

fibrosis. The Cochrane Library [citado 29 Mayo 2017]. 2015. Disponible en:  
[http://www.cochrane.org/CD009841/CF\\_ivacaftor-marketed-as-kalydecor-a-new-specific-therapy-for-cystic-fibrosis](http://www.cochrane.org/CD009841/CF_ivacaftor-marketed-as-kalydecor-a-new-specific-therapy-for-cystic-fibrosis)

# FARMACOGÉNÉTICA EN FIBROSIS QUISTICA

Autor: D. Javier Oraá Pérez, Tutor: D. Juan José Tellería Orriols

La fibrosis quística (FQ) fue descrita por primera vez en 1936 como una entidad separada. Recibía el nombre de "mucoviscidosis" debido a la acumulación de espesas secreciones mucosas que bloqueaban las vías aéreas, causando infecciones secundarias.

Se trata del trastorno genético autosómico recesivo mortal más frecuente en los niños de origen europeo occidental, con una incidencia de aproximadamente un caso por cada 2.500 recién nacidos vivos de raza blanca, siendo el estado de portador de aproximadamente un individuo por cada 25 personas.

La supervivencia de los pacientes con fibrosis quística ha mejorado gracias a los avances en los cuidados respiratorios y nutricionales, alcanzando un promedio de esperanza de vida comprendido entre los 30 y 40 años.

## FSIOPATOLOGÍA:

Los órganos más afectados por la fibrosis quística son:

**Pulmones:** la producción de secreciones espesas y las infecciones recurrentes provocan la enfermedad. Aquellas personas con FQ son incapaces de licuar las secreciones mucosas de la vía aérea creando un nicho perfecto para la colonización por un gran número de microorganismos. Como consecuencia de ello, existe un estado inflamatorio continuo en la vía aérea provocando la destrucción de la arquitectura del tejido pulmonar en forma de bronquiectasias.

**Páncreas:** CFTR está localizado en la superficie apical de las células de los conductos pancreáticos, encargado de la secreción de bicarbonato. La deficiencia de CFTR dificulta el adecuado funcionamiento exocrino del páncreas, disminuyendo la calidad de las secreciones. Esto deriva en una oclusión ductal provocando insuficiencia

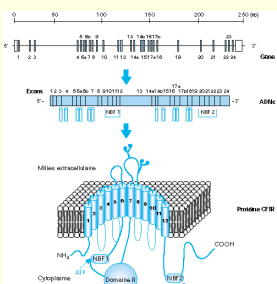
## Estructura del gen y de la proteína CFTR

En 1989 se localizó la posición del gen asociado a la enfermedad en el cromosoma 7q31.

Se denominó **CFTR** por sus siglas en inglés *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*.

CFTR está formado por dos dominios transmembrana, dos dominios de unión de nucleótidos (NBD) citoplasmáticos y un dominio regulador (dominio R) que contiene lugares de fosforilación.

Los dominios transmembrana forman el canal y su activación está mediada por aumentos de AMPc, seguido de la activación de la protein-quinasa A que fosforila el dominio R.



## Relación genotipo-fenotipo del CFTR

Tras el descubrimiento del gen CFTR se fundó, para su estudio, el consorcio de Terapia Génica de la Fibrosis Quística. Con el fin de identificar todas las mutaciones derivadas del gen CFTR se creó una base de datos en el hospital de niños enfermos de Toronto para clasificarlas. Esta base de datos se denominó **CFTR1 (Clinical and Functional Translation of CFTR)**.

Más recientemente, se ha desarrollado la base de datos **CFTR2** que contiene información clínica y genética de mutaciones de unos 80.000 pacientes procedentes de 41 países y provee información detallada sobre el genotipo-fenotipo de CFTR para 276 mutaciones. Entre las mutaciones de CFTR almacenadas en CFTR2 se incluyen mutaciones causantes de fibrosis quística, mutaciones relacionadas con enfermedades asociadas a la fibrosis quística, mutaciones sin consecuencias clínicas conocidas y mutaciones con significado clínico incierto.

Las mutaciones descritas en la actualidad se clasifican en 6 tipos o clases en función del mecanismo por el que causan la enfermedad. La primera mutación descrita, y la más frecuente a nivel mundial, es la Phe508del.

Clase de mutación	I	II	III	IV	V	VI
Defecto molecular	No síntesis	Bloqueo prematuro	Bloqueo de regulación	Reducción de conducción	Síntesis reducida	Vida media reducida
Alteración funcional	No se sintetiza proteína	Defecto de plegamiento	Defecto de apertura canal	Defecto transporte iones	Discreta síntesis proteína	Discreta vida media proteína
Principales mutaciones	Gly542X Trp128K Arg505K G21+10-T	Phe508del Asn1302Lys Ile507del Arg505Thr	Gly551Asp Gly178Arg Ile507del Ser548Asn	Arg1179His Arg347Pro Arg1170Cys Arg334Trp	3849+10delC-T 2788+5G-A 3100+1G-A 5T	4326delTC Gln1412X 4279delAA

En pacientes heterocigotos para la fibrosis quística, el alelo con una mutación más "suave" es dominante fenotípicamente, dando como resultado, en general, una enfermedad menos grave. Los pacientes con FQ con al menos una mutación de CFTR en clase IV o V tienen mayor actividad residual de CFTR que aquellos pacientes con ambas mutaciones en clases I-III.

## Fármacos dirigidos contra los defectos genéticos de CFTR

En enero de 2012, la primera medicación dirigida a solucionar los defectos básicos de CFTR fue aprobada y está actualmente comercializada. Dentro del desarrollo de los fármacos reparadores de la proteína CFTR, se han identificado 3 grupos principales:

- Fármacos supresores del codón de parada prematuro (mutación de clase I): consiguen que no se identifique este codón de parada prematuro, por lo que la proteína puede seguir su síntesis al completo.
- Fármacos correctores del CFTR: diseñados para corregir el tráfico de la proteína con defectos en el plegamiento (mutación de clase II) hasta la membrana celular donde podría hacer su función casi con normalidad.
- Fármacos potenciadores del CFTR: tienen por diana la proteína CFTR que está en la superficie celular, con objeto de mejorar su función. Pueden actuar sobre las mutaciones de clases III, IV, V y VI.

### TRATAMIENTOS PARA LAS MUTACIONES DE CLASE I

Aproximadamente un 10% de los casos de FQ son de este tipo.

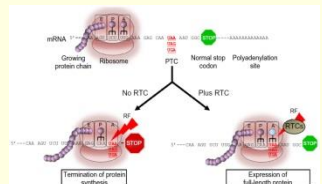
#### MEDICAMENTOS:

##### Gentamicina:

- Pertenece a los aminoglucósidos.
- Primeros fármacos utilizados para esta clase de mutaciones.
- Se usen tanto al RNA procariotida como al RNA eucariota reduciendo la fidelidad de la traducción.
- El número de errores en la traducción aumenta enmascarando el codón de parada prematuro que evita la síntesis de la proteína CFTR.

##### Ataluren (PTC-124):

- Alternativa sintética: compuesto oral no aminoglucosídico.
- Molécula diseñada para que los ribosomas puedan leer la información genética "saltándose" el codón de parada prematuro y dando como resultado una proteína CFTR funcional.



#### ENSAYOS CLÍNICOS:

Ensayo clínico en fase III → ataluren vs placebo (Conferencia Americana de FQ de 2012):

- Todos los participantes presentaban al menos una copia con una mutación del tipo nonsense.
- Resultados:** No hubo mejoría en diferentes variables clínicas (calidad de vida, función pulmonar, exacerbaciones, niveles de cloro en sudor o peso) en aquellas personas que tomaron ataluren. Se descubrió que **el daño renal estaba más presente**.
- No se encontró evidencia suficiente para determinar el efecto positivo** en aquellos pacientes con FQ tratados con ataluren.

### TRATAMIENTOS PARA LAS MUTACIONES DE CLASE II

Presentes en un elevado número de los pacientes. Incluyen la mutación más frecuente de la enfermedad (Phe508del).

Esta mutación posee propiedades de las mutaciones de clase II (defecto del plegamiento) y, también, de clase III y de clase IV.

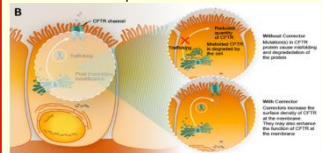
#### MEDICAMENTOS:

##### Ivacaftor (VX-770):

- Molécula potenciadora del CFTR. Se han investigado sus efectos en pacientes homocigotos para Phe508del.
- Aumenta el tiempo de apertura y la conducción de cloro a través de la célula epitelial.

##### Lumacaftor (VX-809):

- Molécula correctora del CFTR.
- Puede ayudar al movimiento de Phe508del-CFTR a la superficie de la célula.



#### ENSAYOS CLÍNICOS

Cuatro ensayos clínicos → ivacaftor vs placebo:

- Los participantes presentaban mutaciones del tipo Gly551Asp o Phe508del (esta última en homocigosis).
- Resultados:** Ivacaftor es un **tratamiento efectivo** para las personas mayores de seis años con FQ que poseen la **mutación Gly551Asp**. Sin embargo, **no** para aquellos que presentan la **mutación Phe508del**.

Ensayos TRAFFIC y TRANSPORT → lumacaftor + ivacaftor:

- Pacientes homocigotos para la mutación Phe508del de 12 años o mayores.
- Resultados:**

Tratamiento	STRIVE	TRAFFIC/TRANSPORT
Drugs	Ivacaftor	Ivacaftor + lumacaftor
Genotype	2copy G551D	Phe508del homocigous
Treatment effect: absolute change FEV1	10.6%	2.6-4%
Treatment effect: relative change FEV1	16.9%	4.3-6.7%

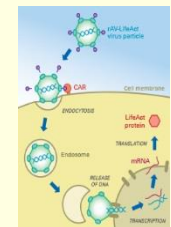
- Conclusión:** La mejoría del defecto Phe508del subyacente podría ser posible con la combinación de ambas moléculas.

## Terapia génica

Una proporción de pacientes no despreciable posee una mutación de CFTR que no responde ni a los fármacos correctores ni potenciadores.

Como alternativa se ha investigado en el **reemplazamiento de genes a través de la terapia génica de CFTR**, utilizando tanto vectores virales (adenovirus) y vectores adeno-asociados) como no virales.

Estudios demuestran que es muy posible que el **lentivirus (virus RNA)** pueda desempeñar un papel importante en este tipo de terapias al requerir una **transcripción inversa del DNA que facilitaría la persistencia del efecto terapéutico**.



## Discusión

La fibrosis quística constituye un ejemplo de enfermedad bien situada para beneficiarse de la medicina personalizada. Es una enfermedad monogénica y con una fisiopatología bien conocida y unas dianas terapéuticas bien identificadas. El diagnóstico de la enfermedad precisa de tests genéticos que detectan la variedad de la enfermedad, permitiendo identificar el tipo de defecto genético en cada caso concreto.

A pesar del descubrimiento de este defecto genético hace más de dos décadas, los científicos se han enfrentado a importantes obstáculos a lo largo de todo el camino en la búsqueda y desarrollo de terapias génicas específicas para los pacientes con fibrosis quística.

En la actualidad, dos enfoques muy diferentes tienen por objetivo corregir el defecto básico: la terapia génica, dirigida a corregir la alteración genética; y la terapia con moléculas, cuyo objetivo es corregir el defecto funcional a nivel de la proteína.

El futuro del tratamiento de la FQ es muy prometedor. Existen numerosos ensayos clínicos en curso para comprobar la eficacia de nuevos correctores, potenciadores y otros agentes en determinadas mutaciones de CFTR, mejorando su producción y función.

## Conclusiones

- No se ha encontrado evidencia suficiente para determinar el efecto positivo del **ataluren** en aquellos pacientes con mutaciones de clase I.
- La evidencia sugiere que el **ivacaftor** es un tratamiento efectivo para las personas mayores de seis años con FQ que poseen la mutación Gly551Asp, pero no para aquellos que presentan la mutación Phe508del.
- La terapia combinada con **ivacaftor-lumacaftor** incrementa el FEV1, reduce las exacerbaciones pulmonares y aumenta el IMC de manera significativa en pacientes mayores de 12 años con la mutación Phe508del en homocigosis.
- El **ivacaftor** ha demostrado recientemente beneficios similares en otras ocho mutaciones de clase III distintas a Gly551Asp y en una mutación de clase IV (Arg117Hst).
- La **terapia génica** está explorando la forma de introducir copias normales del gen en las vías respiratorias de los pacientes con FQ mediante vectores, tanto virales como no virales. Sin embargo, los resultados por el momento han sido pobres debido a que la duración de la expresión del gen introducido es corta con ambos tipos de vectores.

#### Bibliografía

- Tompson P, Elwell S. *Ensayo Elementales Genomica*. 1a ed. España: Elsevier; 2009.
- Nussbaum RL, Motilva RR, Willard HF, Thompson & Thompson. *Genética en Medicina*. 7a ed. España: Elsevier; 2009.
- Majumder MC, Bhattacharya CD. *Cystic Fibrosis: Molecular Basis of Genetic Disorders*. Endocrinology & Metabolism (London) [serial online]. 2010; 2017; 2016; 02: 38-44.
- Cole SJ, McKiernan EF. *Pharmacogenetics of cystic fibrosis treatment*. Pharmacogenetics. 2016; 17: 143-149.
- Murphy MP, Cassiani E. *Current and emerging therapies for the treatment of cystic fibrosis or mitigation of its symptoms*. Drug in Clin Ther. 2016; 1: 17.
- Chomara-Daigo E, Delgado-Pedraza I, Acuña CC. *CFTR protein repair therapy in cystic fibrosis*. *Advances in Biomedicine* [serial online]. 2015; 2015; 02: 146-150.
- Namjoo JH, Beaton C. *Clinical potential of ataluren in the treatment of Duchenne muscular dystrophy*. *Degenerative Muscular and Neuromuscular Disease* [serial online]. 2015; 2015; 02: 27-48.
- Adnan A, Smith JP, Southern KW. *Alantoin and similar compounds: specific therapies for premature termination codon onset mutations in cystic fibrosis*. *The Cochrane Library* [serial online]. 2015; 2015; 02: 2016.
- Patel S, Smith JP, Dwan K, Echevarria C, Schreiber M, Southern KW. *Ivacaftor (marketed as Kalydeco), a new specific therapy for cystic fibrosis*. *The Cochrane Library* [serial online]. 2015; 2015; 02: 2016.