



## FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

# TRATAMIENTOS PARA LA ENFERMEDAD DE FABRY BASADOS EN TERAPIA GÉNICA

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Diciembre 2023

**Autora:** Naiara Fernández Pastor

**Modalidad:** Revisión Bibliográfica

**Tutora:** Encarnación Rodríguez Cazorla

## ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1. CAUSA.....	4
2.2. DIAGNÓSTICO .....	6
2.3. SINTOMATOLOGÍA .....	7
2.4. TRATAMIENTOS.....	9
2.4.1. Terapia de reemplazo enzimático (TRE).....	9
2.4.2. Terapias de aumento enzimático mediante el uso de chaperonas	10
2.4.3. Terapia de reducción de sustrato.....	11
2.4.4. Terapias no específicas .....	12
2.4.5. Terapia génica .....	12
3. OBJETIVOS.....	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
4.1. TERAPIA GÉNICA CON UN VECTOR LV Y ACONDICIONAMIENTO NO MIELOABLATIVO PREVIO.....	17
4.2. TERAPIA GÉNICA MEDIANTE EL USO DE UN VECTOR VAA .....	21
5. CONCLUSIONES .....	28
6. BIBLIOGRAFÍA.....	29

## 1. RESUMEN

La enfermedad de Fabry es una enfermedad hereditaria debida a mutaciones en el gen *GLA*, ligado al cromosoma X. Estas mutaciones causan el déficit o la reducción de los niveles de la enzima lisosómica  $\alpha$ -galactosidasa A, lo que provoca la acumulación de glucoesfingolípidos como globotriaosilceramida (Gb3). Los pacientes pueden padecer esta enfermedad presentando un fenotipo clásico, donde la actividad de esta enzima está por debajo del 10% de los niveles normales, o bien un fenotipo tardío, donde los niveles de la actividad enzimática son superiores al 10% respecto a la actividad normal. En ambos casos, la acumulación de Gb3 en los lisosomas suele afectar a órganos como el hígado, el riñón o el cerebro, pudiendo provocar la muerte prematura del paciente.

Hoy en día, existen varias líneas de tratamientos, como la terapia de reemplazo enzimático donde se administra  $\alpha$ -galactosidasa A exógena humana al paciente, o la terapia de aumento enzimático mediante el uso de chaperonas. Sin embargo, estas terapias no son curativas. Por ello se están llevando a cabo investigaciones basadas en terapia génica que buscan la introducción de la secuencia correcta del gen *GLA* y así conseguir la producción de niveles adecuados de la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A.

Actualmente se están estudiando dos tipos de terapias génicas. La primera utiliza un vector lentiviral autoinactivante para la transducción *ex vivo* de células madre hematopoyéticas, y con acondicionamiento no mieloablativo de la médula ósea. La segunda consiste en el uso de un vector viral adenoasociado para la transducción *in vivo* de hepatocitos. Para ambos ensayos los resultados en cuanto a seguridad y tolerabilidad han sido muy buenos, y además se ha conseguido aumentar los niveles de  $\alpha$ -galactosidasa A en todos los pacientes. Estos resultados son muy prometedores y podrían suponer la curación definitiva para los pacientes de la enfermedad de Fabry en un futuro.

## 2. ANTECEDENTES

Las enfermedades de depósito lisosomal son un conjunto heterogéneo de trastornos hereditarios del metabolismo que se deben a defectos en la función de los lisosomas. Los lisosomas son orgánulos cuya función esencial es el catabolismo de macromoléculas para el reciclaje de sus componentes, utilizando para ello distintas enzimas. El mal funcionamiento de alguna de ellas causa la acumulación gradual de estas moléculas a degradar, lo que acaba provocando fallos en la célula y su posterior muerte. Generalmente estas enfermedades acaban cursando con un fallo multiorgánico que lleva a la muerte del paciente, normalmente a edades muy tempranas. Se han descrito más de 70 enfermedades de este tipo y se clasifican en función de la naturaleza de la molécula acumulada<sup>1,2</sup>:

- Mucopolisacaridosis
- Mucolipidosis
- Glucoproteinosis
- Lipidosis
  - o Esfingolipidosis
  - o Gagliosidosis
  - o Leucodistrofias

### 2.1. CAUSA

La enfermedad de Fabry, perteneciente al grupo de las esfingolipidosis, tiene una prevalencia de 1 de cada 5000/10000 nacimientos<sup>3</sup>. Está causada por una actividad reducida o ausente de la enzima lisosómica  $\alpha$ -galactosidasa A<sup>4</sup>. Esta glicoproteína homodimérica hidroliza principalmente glucoesfingolipidos con grupos  $\alpha$ -galactosil terminales, donde se incluyen la globotriaosilceramida (Gb3) y su forma desacilada, la globotriaosilesfingosina (liso-Gb3). La disminución o carencia de la actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa A provoca la acumulación gradual de estos sustratos en los lisosomas e interfiere en la función normal de distintos órganos, especialmente de los riñones, sistema nervioso y corazón<sup>5</sup>.

La  $\alpha$ -galactosidasa A está codificada por el gen *GLA*, localizado en el brazo largo del cromosoma X. La porción codificante consiste en 1290 pares de bases divididas en 7 exones. Actualmente hay más de 900 mutaciones distintas descritas para este gen, siendo la mayoría mutaciones puntuales (afectan sólo a un par de bases de la secuencia). Dentro de éstas podemos encontrar mutaciones de cambio de sentido (55,9%), donde hay una sustitución de un nucleótido por otro, provocando la formación de un codón distinto, mutaciones sin sentido (11,2%), donde el cambio de un nucleótido genera un codón de parada prematuro, y mutaciones en sitios de splicing (4,2%), que provocan una escisión de intrones aberrante. En general, las mutaciones sin sentido y las mutaciones en sitios de splicing dan lugar a una nula o casi nula actividad enzimática, mientras que las mutaciones de cambio de sentido pueden generar una enzima con cierto grado de actividad. Así pues, la presentación de la enfermedad de Fabry va a depender principalmente del tipo de mutación, ya que la ausencia total de la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa A tendrá un efecto más nocivo que una reducción parcial de su actividad, tal y como se detalla en el apartado 2.3<sup>5</sup>.

Como se ha indicado anteriormente, el gen *GLA* está ligado al cromosoma X. Los hombres sólo poseen un cromosoma X, por tanto, tienen una sola copia del gen *GLA* que heredan siempre de sus madres y sólo transmiten a sus hijas. Si un hombre recibe una copia mutada del gen *GLA* implica que manifestará la enfermedad de Fabry. Las mujeres, con dos cromosomas X, tiene dos copias del gen *GLA*. Es extremadamente infrecuente que hereden dos copias mutadas del gen, por lo que la mayoría de las mujeres son heterocigotas. Muchas de estas mujeres son asintomáticas, ya que la copia normal del gen *GLA* es suficiente para compensar la copia mutada. Pero también encontramos mujeres con fenotipos graves de la enfermedad, lo que va a depender en gran medida de la mutación heredada<sup>5</sup>.

## 2.2. DIAGNÓSTICO

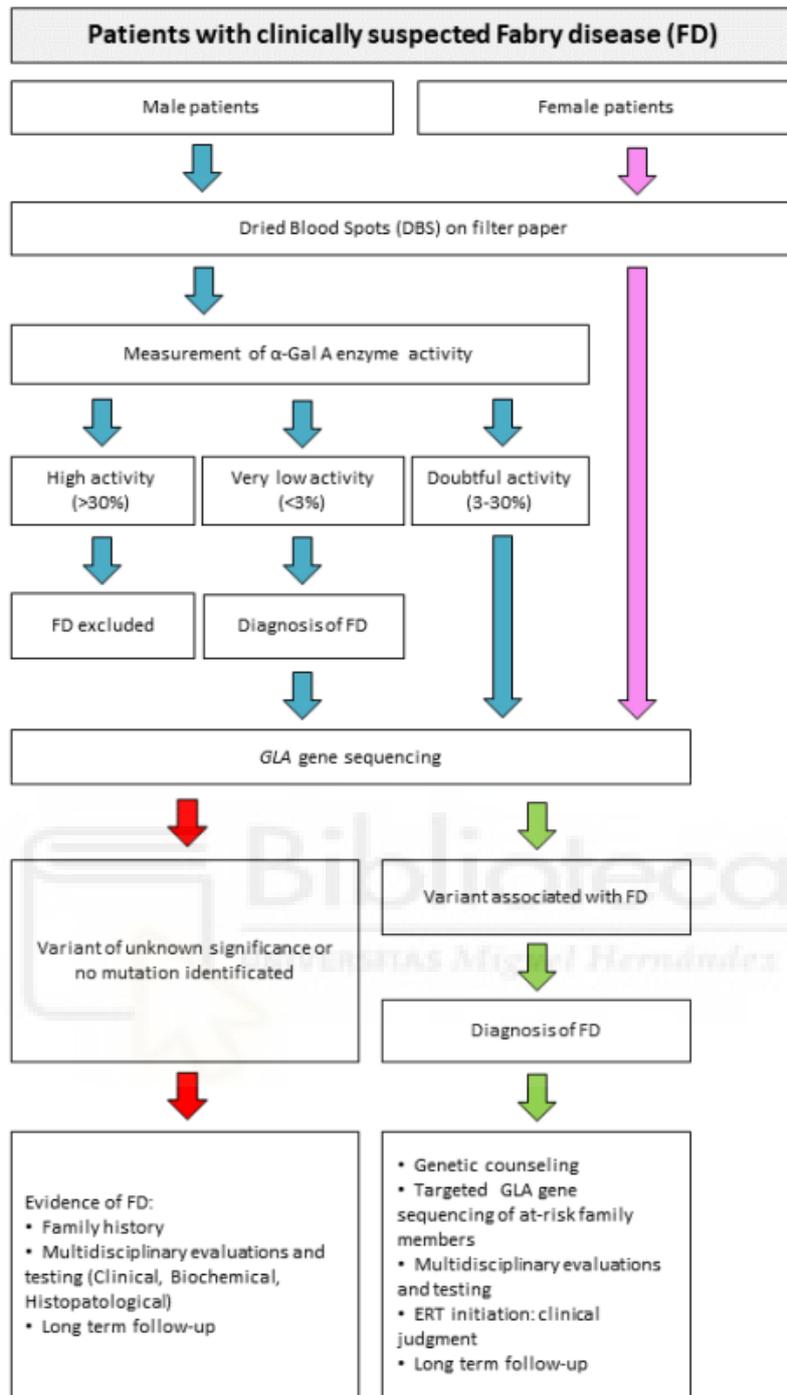
A la hora de diagnosticar la enfermedad de Fabry nos encontramos con varios problemas, ya que al no ser una patología con síntomas claros y clasificatorios el diagnóstico se hace difícil y normalmente éste llega a edades tardías. Aun así, existen varias formas de diagnosticar la enfermedad de Fabry:

- 1- Cuantificar la actividad de la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A.
- 2- Cuantificar la acumulación de sustratos Gb3 y liso-Gb3.
- 3- Secuenciación del gen *GLA* en busca de mutaciones en su secuencia.

Cuando se cuantifica la actividad enzimática se pretende demostrar la baja eficiencia o la ausencia de la actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa A en leucocitos aislados de sangre periférica o cultivo de fibroblastos. La determinación enzimática también puede realizarse en gotas de sangre seca en papel de filtro. Los niveles por debajo del 25% de la actividad normal se considera un diagnóstico positivo y niveles por debajo del 35% de la actividad normal hacen sospechar de un posible diagnóstico de Fabry<sup>6</sup>. Debido a que la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa A puede presentar valores no tan reducidos en ciertos pacientes, este ensayo no siempre es de utilidad y se debe recurrir al estudio genético mediante la secuenciación del gen *GLA*<sup>7</sup>.

También existe la posibilidad de medir la acumulación de los residuos de Gb3 y liso-Gb3, biomarcadores de la enfermedad los cuales, en función de su concentración en plasma y orina, nos podrán indicar el padecimiento de la enfermedad de Fabry<sup>5</sup>.

La secuenciación del gen *GLA* se utiliza como método de confirmación en pacientes con una actividad enzimática por encima del 25% de la actividad normal de la  $\alpha$ -galactosidasa A. Una vez se ha identificado la mutación en el paciente es recomendable realizar una secuenciación genética a los miembros de la familia susceptibles de haber heredado también la enfermedad<sup>8</sup>.



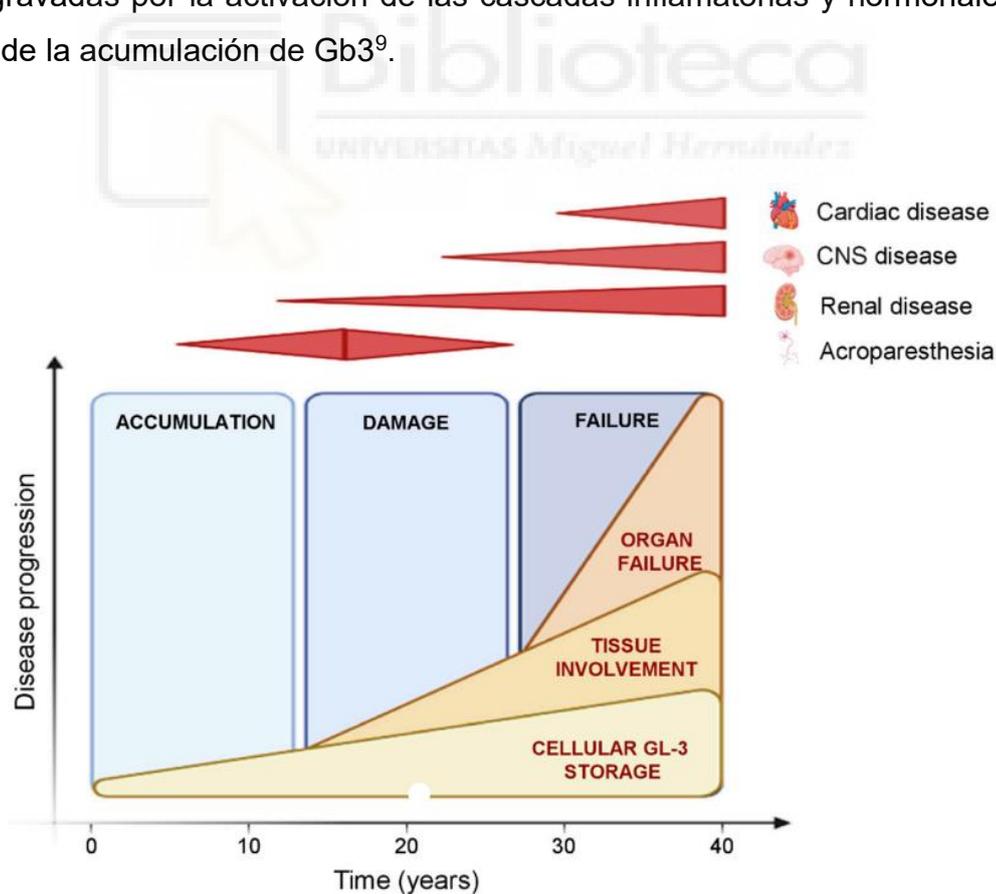
**Figura 1.** Diagrama de flujo para el diagnóstico de la enfermedad de Fabry <sup>5</sup>.

### 2.3. SINTOMATOLOGÍA

La mayoría de los pacientes que padecen la enfermedad de Fabry no muestran síntomas en los primeros años de vida, sino que estos suelen aparecer

durante la niñez y adolescencia. Cuando se describe la enfermedad de Fabry debemos clasificarla en dos tipos: la clásica y la de aparición tardía.

El fenotipo clásico está relacionado con una actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa A inferior al 10% de la actividad normal de la enzima<sup>5</sup>. Los individuos presentan anomalías dismórficas en la cara, tales como lóbulos de las orejas prominentes, cejas muy pobladas y frente hundida<sup>6</sup>. Los primeros síntomas detectables son dolor neuropático y crisis dolorosas que emergen comúnmente en la niñez. Estos síntomas suelen ir acompañados de alteraciones en la sudoración, anormalidades características en la piel llamadas angioqueratomas, patologías gastrointestinales y una opacidad corneal característica denominada *cornea verticillata*. A nivel orgánico presentan fallos renales como albuminuria y glomeruloesclerosis, que pueden causar fallo renal. A nivel cardiovascular desarrollan hipertrofia ventricular asociada a arritmias, ataques isquémicos y muerte prematura. Estas manifestaciones cardiacas se ven agravadas por la activación de las cascadas inflamatorias y hormonales a causa de la acumulación de Gb3<sup>9</sup>.



**Figura 2.** Relación de la afectación de la enfermedad con el paso de los años <sup>9</sup>.

La otra forma de manifestación de la enfermedad es conocida como de aparición tardía. Los pacientes que la manifiestan tienen una actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa A de hasta el 10% con respecto a la actividad normal y presenta mayoritariamente complicaciones cardiovasculares, como arritmias, y una disminución de la tasa de filtrado glomerular que puede provocar posteriormente fallo renal y desencadenar un fallo multiorgánico que conduzca a la muerte del paciente<sup>5</sup>.

En general, la esperanza de vida se puede reducir en 20 años en el caso de los hombres y 15 años en las mujeres, siendo la causa principal de muerte los accidentes cerebrovasculares<sup>10</sup>.

## 2.4. TRATAMIENTOS

En la actualidad se han diseñado diversas líneas de tratamiento para esta enfermedad. Estos tratamientos nos son curativos, enfocándose en reducir la acumulación de Gb3 y liso-Gb3 y también en paliar los daños que provoca la acumulación de estos residuos. El tratamiento mediante terapia génica, objeto de este trabajo, sería el único cuya finalidad es curar definitivamente a los pacientes.

### 2.4.1. Terapia de reemplazo enzimático (TRE)

Esta terapia consiste en la administración exógena de  $\alpha$ -galactosidasa A recombinante humana, también llamada agalsidasa. Existen dos preparaciones aprobadas ambas en 2001 por la Agencia Europea del Medicamento (EMA), agalsidasa  $\alpha$  y agalsidasa  $\beta$ , con los nombres comerciales Replagal y Fabrazyme, respectivamente<sup>11</sup>. Los resultados clínicos del uso de estos fármacos han demostrado una clara disminución de los depósitos de Gb3 en las células glomerulares y endoteliales. Fisiológicamente, presenta una pobre biodistribución y un corto tiempo de vida media. Debido a esto se debe administrar vía intravenosa cada dos semanas. Aunque esta terapia es bien

tolerada, a veces puede causar reacciones tales como hiperpirexia, disnea y erupciones cutáneas, que se pueden solventar mediante premedicaciones<sup>12</sup>.

Los últimos estudios han demostrado que el tratamiento continuado con agalsidasa  $\beta$  durante 5 años produce una disminución en la incidencia de los accidentes graves relacionados con la enfermedad de Fabry a pesar de la edad del paciente<sup>8</sup>.

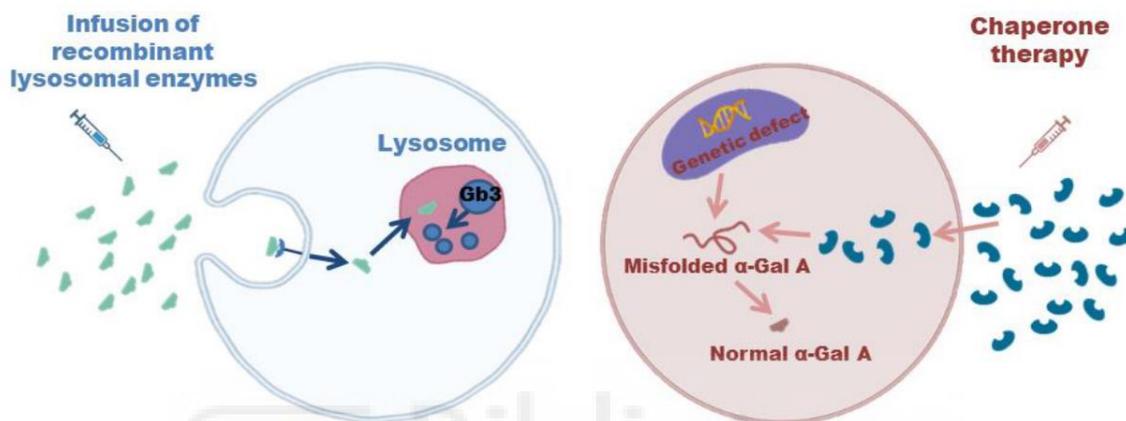
A día de hoy, la TRE es el tratamiento aprobado que trata de manera más eficiente la enfermedad de Fabry. Ha demostrado reducir los niveles de Gb3 y, consecuentemente, paliar los daños causados por la acumulación de este sustrato. A pesar de ello, la TRE presenta grandes inconvenientes tales como: una considerable variación clínica, un efecto determinado por la edad a la que se inicia el tratamiento, elevado coste, posible formación de anticuerpos contra la enzima suministrada y que se debe administrar una infusión intravenosa cada dos semanas<sup>13</sup>.

#### 2.4.2. Terapias de aumento enzimático mediante el uso de chaperonas

Hay ciertas mutaciones en el gen *GLA* que permiten la producción de  $\alpha$ -galactosidasa A con una actividad catalítica normal, pero que presentan defectos en su plegamiento provocando una degradación prematura, por tanto, la actividad enzimática se ve muy afectada. Para solventar este problema se utilizan las terapias basadas en el uso de chaperonas. Las chaperonas son proteínas presentes en todas las células; y en el caso de la  $\alpha$ -galactosidasa A se encargan de estabilizar su conformación para un correcto plegamiento, maduración y transporte de la enzima hasta el lugar apropiado para realizar su función.

Dentro de este grupo terapéutico encontramos el fármaco migalastat, comercializado bajo el nombre de Galafold y aprobado por la EMA en 2006. Tras un año de tratamiento con migalastat los pacientes han mostrado un aumento de los niveles de  $\alpha$ -galactosidasa A y una notable disminución de los niveles de Gb3 en plasma. Respecto a la función cardiovascular, la masa del miocardio se ha visto notablemente disminuida indicando una mejoría.

En comparación con la TRE, esta terapia presenta una mejor biodisponibilidad, su administración es oral. Además, puede de cruzar la barrera hematoencefálica, pudiendo contribuir a reducir la probabilidad de accidentes cerebrovasculares. Sin embargo, no se puede utilizar en pacientes en los que se produce poca cantidad de  $\alpha$ -galactosidasa A, sino solo en pacientes con defectos de plegamiento de la enzima<sup>4,12</sup>.



**Figura 3.** Esquema de los mecanismos de acción de la TRE (izquierda) y del tratamiento con chaperonas (derecha)<sup>5</sup>.

#### 2.4.3. Terapia de reducción de sustrato

Son terapias cuyo objetivo es reducir los depósitos de macromoléculas mediante la inhibición de su síntesis. Las ventajas que presenta esta terapia son su gran biodisponibilidad y la capacidad que tienen los fármacos de atravesar la barrera hematoencefálica; pero para su eficacia es necesario que el paciente presente unos altos niveles de depósitos enzimáticos.

Dentro de este grupo encontramos los fármacos lucerastat y venglustat, moléculas que inhiben competitivamente la glucosilceramida sintetasa, encargada de catalizar el paso de ceramida a glucosilceramida, lo que finalmente impide la acumulación de Gb3. Estos fármacos aún se encuentran en fase experimental, aunque hasta el momento han demostrado una buena tolerabilidad, seguridad y eficacia<sup>12</sup>.

#### 2.4.4. Terapias no específicas

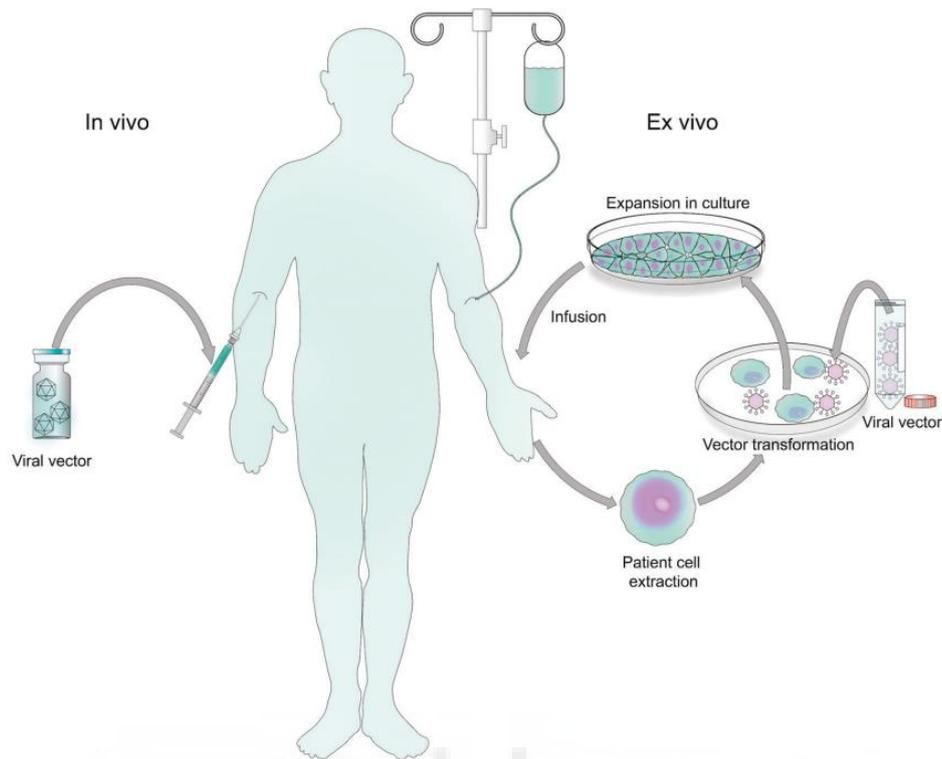
También existen terapias no específicas, que no están orientadas al tratamiento de la deficiencia de la  $\alpha$ -galactosidasa A, sino más bien a paliar las patologías derivadas de la enfermedad. En el caso de los ataques al corazón, se prescribe el uso de antiagregantes plaquetarios tales como clopidogrel o ácido acetil salicílico para la prevención de estos, sobre todo en pacientes cuya familia presente casos de infartos. Para los problemas renales, los pacientes responden bien a los tratamientos con los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y los bloqueantes de los receptores de angiotensina. Se ha demostrado que la combinación de estos fármacos junto con la TRE disminuye la proteinuria en el paciente hasta niveles normales. Si esto falla o el daño renal es muy avanzado, se realizan tratamientos de diálisis de manera semanal, y en el caso de que sea insuficiente se plantea un trasplante de riñón en los casos más graves<sup>6</sup>.

El dolor neuropático se trata con dosis bajas de fármacos antiepilépticos como carbamazepina o lamotrigina, antiinflamatorios no esteroideos o en su defecto narcóticos opiáceos.

A pesar de que se estén investigando todas estas terapias, se deben combinar con intervenciones que ayuden a manejar los síntomas renales, cardíacos, neurológicos u otras complicaciones que pueda presentar la enfermedad de Fabry. Se deben adoptar medidas preventivas y cambios en el hábito de vida para reducir lo máximo posible los síntomas y la gravedad de estos.

#### 2.4.5. Terapia génica

Consiste en el tratamiento de las enfermedades genéticas mediante la introducción de material genético específico en las células de los pacientes. Podemos dividirla en dos grandes grupos: *in vivo*, donde introducimos el material genético directamente en el paciente, o bien puede ser *ex vivo*, donde se sustraen células del paciente, se modifican genéticamente y posteriormente se vuelven a introducir en el sujeto (Figura 4).



**Figura 4. Mecanismo de terapia in vivo y ex vivo<sup>14</sup>.**

En ambos casos se utilizan los llamados vectores, que son los vehículos para transferir el material genético, como por ejemplo un gen, al interior de la célula del paciente, proceso que se conoce como transducción. Existen diversos tipos de vectores, clasificados en dos grupos: vectores virales y vectores no virales.

El vector ideal debe ser fácil de obtener, tener la capacidad de transportar genes de gran tamaño, actuar en células somáticas y quiescentes, evitar la producción de respuesta inmune, que sea fácil de dirigir a diferentes tipos celulares, que consiga que el material genético se mantenga en la célula y que se exprese por un tiempo prolongado.

Los vectores no virales engloban aquellas técnicas de transducción donde el material genético es introducido utilizando métodos químicos y físicos. Si bien es cierto que presentan una mayor seguridad frente a los vectores virales ya que

no provocan respuesta inflamatoria o mutagénesis, su eficiencia es mucho menor que cuando se aplican métodos con vectores virales<sup>15</sup>.

Un vector viral es un virus modificado que sirve de vehículo para introducir material genético exógeno en el núcleo de una célula. Todo vector viral consta de 3 componentes fundamentales: la cápside proteica, que envuelve el material genético, define el tropismo del tejido o la célula del vector y que reconoce los antígenos; el material genético de interés, que cuando se expresa en la célula provoca el efecto deseado, y por último, los elementos reguladores, que controlan la expresión definitiva o transitoria del gen ya sea como un episoma (material genético extracromosómico autónomo) o bien como una parte integrada del cromosoma de la célula hospedadora<sup>14</sup>. El diseño de estos tres componentes es diferente para cada tipo de vector viral.

Existen diversos vectores virales, entre los que podemos encontrar los vectores virales adenoasociados y los vectores lentivirales.

#### ➤ VECTORES VIRALES ADENOASOCIADOS (VAA)

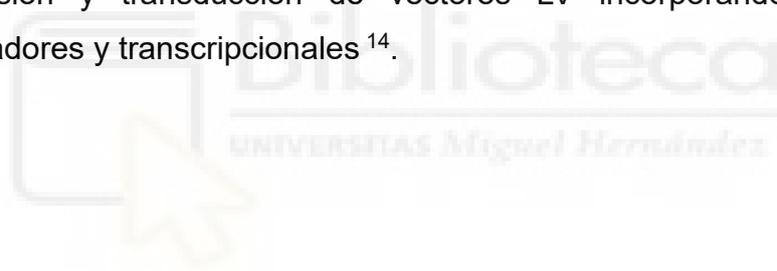
Los vectores VAA tienen un genoma monocatenario de ADN protegido por una cápside de estructura icosaédrica. Su mayor característica que necesitan de un virus auxiliar (como los adenovirus) para completar su ciclo vital. Pueden infectar tanto células que se dividen como las que no se dividen. Una vez su genoma se encuentra en el núcleo de la célula hospedadora, éste ha de convertirse en ADN de doble cadena para poder transcribirse. Aunque no se suelen integrar en el genoma de la célula hospedadora, pueden permanecer largos periodos en células del hígado, músculo y otros órganos sin producir efectos tóxicos, es por ello que tienen un gran potencial para la terapia génica<sup>16</sup>.

#### ➤ VECTORES LENTIVIRALES (LV)

Está formado por una cápside proteica y una envuelta lipídica, en cuyo interior hay una transcriptasa inversa y una integrasa, además de dos copias del genoma de ARN monocatenario. Éste está flanqueado por secuencias LTR (*Long Terminal Repeat*) en las regiones 5' y 3', que son una parte fundamental de su replicación. Una vez dentro de la célula

hospedadora, los vectores LV deben transcribir de manera inversa su genoma en ADN complementario. Éste se integra en el genoma de la célula hospedadora, preferentemente en los sitios transcripcionalmente activos, y permaneciendo allí por largos periodos de tiempo <sup>16</sup>. Como los vectores VAA, pueden transducir células en división, así como quiescentes<sup>16</sup>.

Estos vectores presentan riesgos precisamente debido a su capacidad para integrarse en el genoma de la célula transducida. Pueden inactivar genes interrumpiendo su secuencia o bien activar oncogenes al insertarse en regiones cercanas a estos. Esta última posibilidad se ha eliminado gracias a los vectores LV de tercera generación, conocidos como autoinactivantes, que han conseguido mejorar el perfil de seguridad mediante la eliminación de una parte del LTR en 3'. Además, se han realizado modificaciones adicionales para mejorar la eficiencia de la expresión y transducción de vectores LV incorporando elementos reguladores y transcripcionales <sup>14</sup>.



### 3. OBJETIVOS

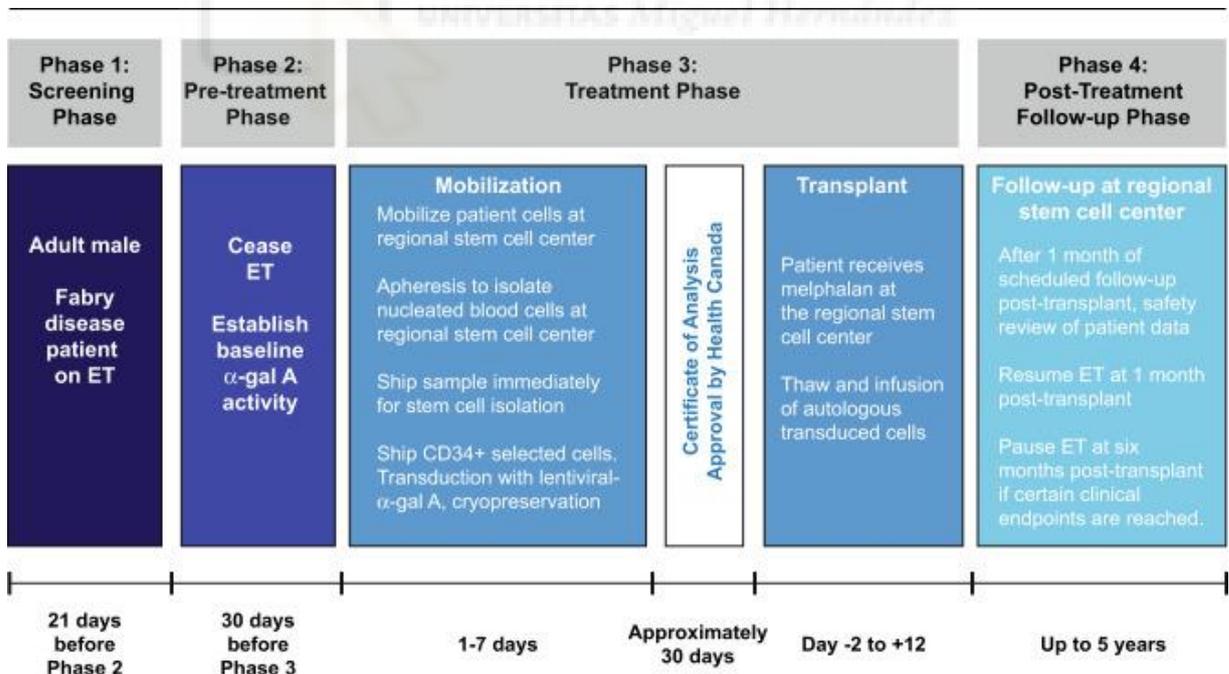
Estudio y revisión de las terapias génicas diseñadas en fase de ensayo clínico para el tratamiento de la enfermedad de Fabry.



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. TERAPIA GÉNICA CON UN VECTOR LV Y ACONDICIONAMIENTO NO MIELOABLATIVO PREVIO

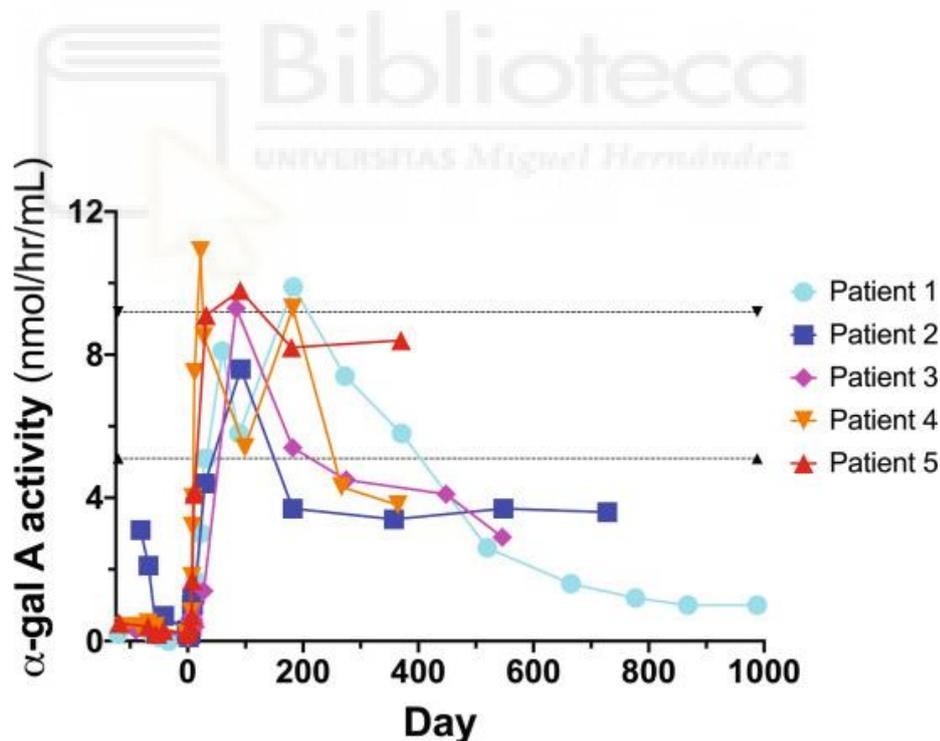
Se trata de un estudio llevado a cabo en 5 hombres adultos con enfermedad de Fabry del fenotipo clásico que estaban siendo tratados con TRE, la cual se detuvo al menos 30 días antes del inicio ensayo. Se obtuvieron células madre hematopoyéticas (CMH) CD34+ de estos pacientes y se transdujeron *ex vivo* con un vector LV autoinactivante que contenía la secuencia del ADN complementario del gen *GLA*. Posteriormente, las células transducidas fueron reintroducidas mediante infusión intravenosa en una sola dosis. Todos los pacientes (excepto el paciente 3, por elección propia) retomaron la TRE 30 días tras la infusión de células. Además, previo al ensayo, se utilizó acondicionamiento no mieloablativo con melfalán. El objetivo es mejorar la capacidad de injerto de las células, y al ser dosis bajas permite el manejo ambulatorio, menos efectos adversos y reducción del coste<sup>17</sup>.



*Figura 5. Esquema del diseño del ensayo clínico<sup>17</sup>.*

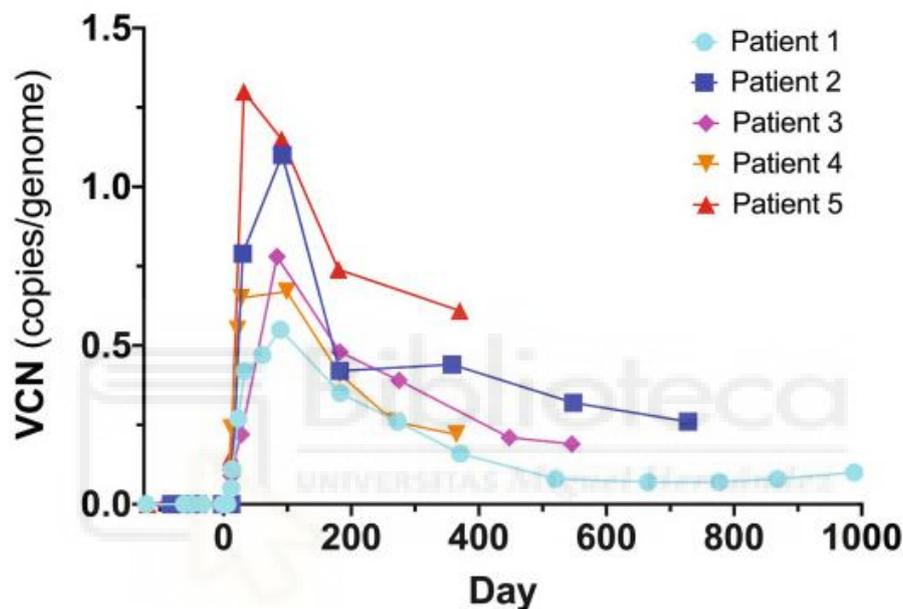
El principal objetivo de este ensayo es evaluar la seguridad y la toxicidad de la terapia. Se establecieron diferentes objetivos secundarios, como la monitorización de los niveles de la actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa A en plasma, leucocitos de sangre periférica y células derivadas de la médula ósea. También se midieron los niveles de Gb3 y liso-Gb3 en plasma y orina para determinar si se reducía la acumulación de estos residuos. Además, se evaluó la eficiencia de transducción de las CMH CD34+, así como la presencia y persistencia de las células que expresan  $\alpha$ -galactosidasa A en sangre periférica.

La actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa A en circulación se detectó por primera vez en todos los pacientes entre los días 6 y 8 después de la infusión celular, llegando en todos los pacientes a los niveles de referencia (valores obtenidos a partir de los niveles determinados en 150 hombre sanos). Aunque la actividad se redujo con el paso del tiempo, ésta se mantuvo por encima de la de los pacientes de Fabry sin tratar y no descendieron hasta los niveles iniciales de cada paciente (Figura 6).



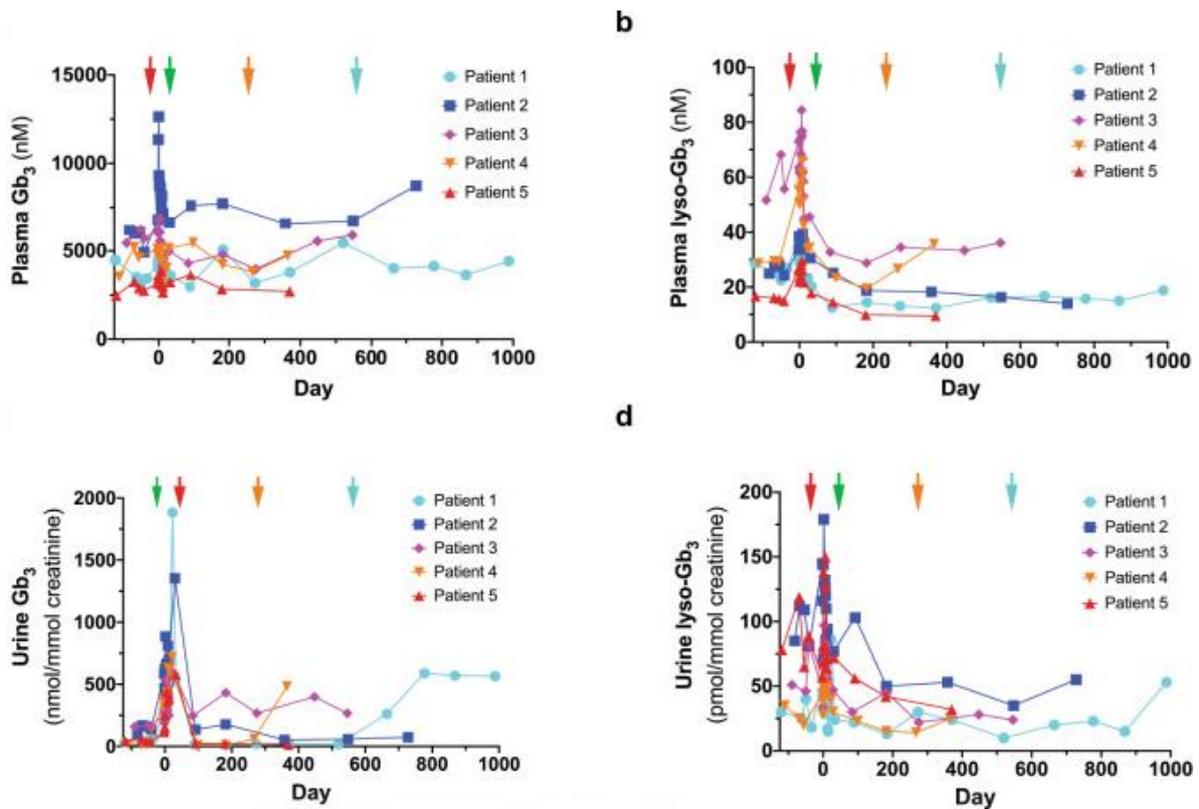
**Figura 6.** Actividad de la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A en plasma. Las líneas de puntos indican el rango de referencia, obtenido a partir de los datos medidos en 150 hombres sanos<sup>17</sup>.

Por otro lado, también se determinó el número de copias del vector por célula o genoma. Se administraron entre 0,68 y 1,43 copias por célula, según el paciente. Estos niveles también descendieron con el tiempo, pero permanecieron por encima de 0,05 copias por célula, al menos hasta 3 años después del inicio del ensayo en el paciente 1, el primero en ser tratado. La transferencia del material genético demuestra ser eficaz y los bajos niveles de copias del vector implican una baja probabilidad de genotoxicidad (Figura 7).



**Figura 7.** Número de copias del vector (VCN, Vector Copy Number). Las líneas de puntos indican el rango de referencia, obtenido a partir de los datos medidos en 150 hombres sanos<sup>17</sup>.

Durante todo el periodo de estudio, los niveles plasmáticos de liso-Gb3 disminuyeron en todos los pacientes salvo en el paciente 4 donde se observó un aumento. Los niveles de Gb3 en plasma fueron generalmente estables en todos los pacientes, aunque se detectó cierto aumento posterior en los pacientes 2 y 3. Los niveles de Gb3 en orina fueron estables en los pacientes 2 y 5 que continuaron con la TRE después de la terapia génica, pero se observó que aumentaron en los pacientes 1 y 4 que optaron por detener la TRE en los días 548 y 214, respectivamente, y en el paciente 3 que no la retomó tras el inicio del ensayo (Figura 8).



**Figura 8.** Niveles de Gb3 y liso-Gb3 en plasma y orina. Niveles de Gb3 en plasma (a), de liso-Gb3 en plasma (b), de Gb3 en orina (c) y de liso-Gb3 en orina (d). La flecha roja indica día en que se detuvo la TRE previa al tratamiento. La flecha verde indica el día en que se retomó la TRE para todos los pacientes excepto el 3. Las flechas naranja y azul indican el día en que los pacientes 4 y 1 detuvieron la TRE, respectivamente<sup>17</sup>.

Los niveles de anticuerpos anti- $\alpha$ -galactosidasa A se redujeron en todos los pacientes a partir de los 6 meses posteriores al tratamiento, salvo en el paciente 2 que carecía de niveles detectables de los mismos.

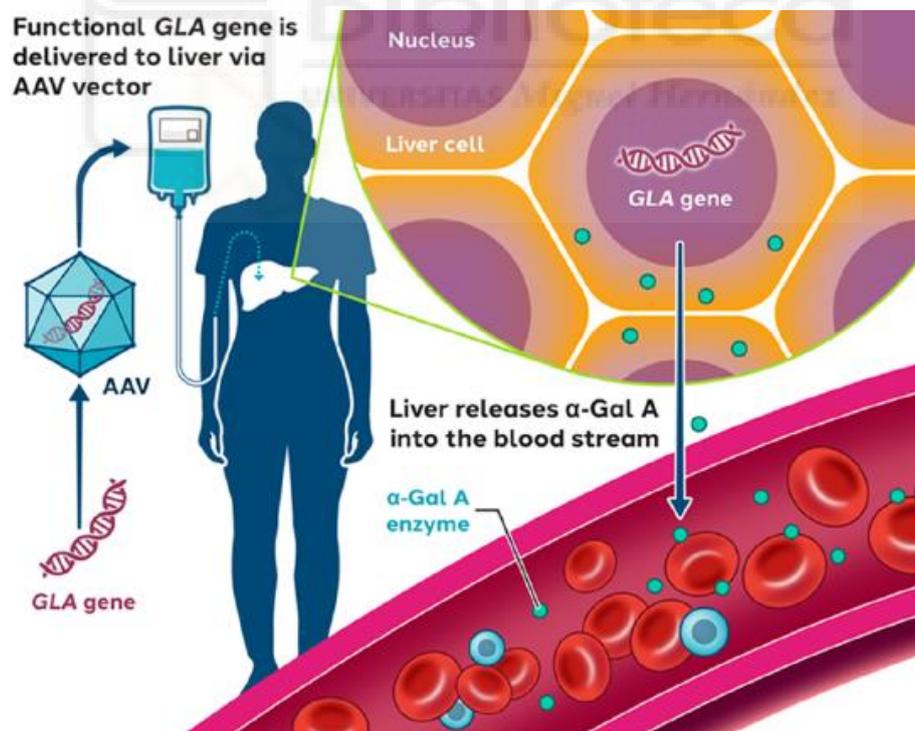
No se reportaron eventos de seguridad inesperados. El perfil de seguridad es consistente para los pacientes sometidos a acondicionamiento con melfalán a dosis bajas para trasplante de CMH autólogas.

En este ensayo clínico piloto de terapia génica en 5 hombres con enfermedad de Fabry clásico, todos los pacientes demostraron un perfil de seguridad sostenido. Además, el tratamiento condujo a un aumento de la actividad circulante e intracelular de  $\alpha$ -galactosidasa A en todos los pacientes, y a una reducción en la acumulación de Gb3 y liso-Gb3 mantenida en la mayoría de ellos. En general, todos los pacientes respondieron positivamente, en mayor

o menor medida, a los efectos de la terapia génica, habiendo abandonado tres de ellos la TRE. Aunque es necesario realizar más evaluaciones a largo plazo, esta terapia podría ser una opción de tratamiento eficaz en pacientes con enfermedad de Fabry.

#### 4.2. TERAPIA GÉNICA MEDIANTE EL USO DE UN VECTOR VAA

En este ensayo en fase clínica se utiliza un vector VAA que incluye la secuencia de ADN complementario del gen *GLA*. Se trata de una terapia génica *in vivo*, en la que el vector se administra vía intravenosa directamente al paciente, cuyas células diana son los hepatocitos. El vector les transfiere su genoma, y éstas expresarán el gen *GLA* y su producto, la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A, que será liberada al torrente sanguíneo (Figura 9). La constante producción de  $\alpha$ -galactosidasa A debería conllevar una reducción y potencial eliminación de los residuos acumulados de Gb3 que se producen en la enfermedad de Fabry<sup>18,19</sup>.

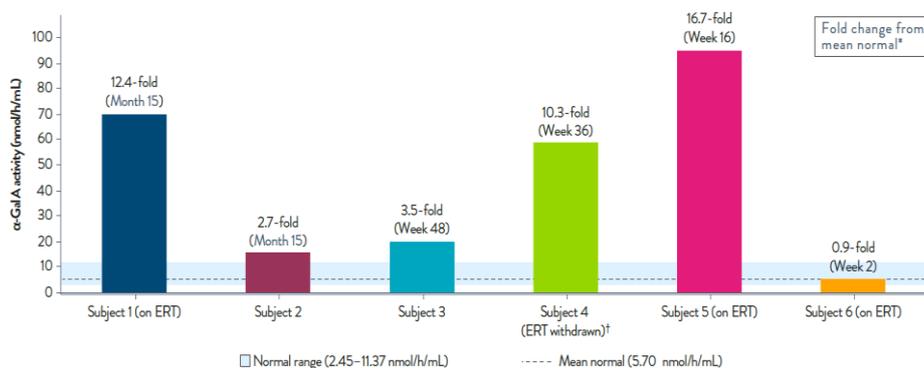


**Figura 9.** Imagen esquemática de la estrategia utilizada en el ensayo con un vector VAA para el tratamiento de la enfermedad de Fabry<sup>19</sup>.

Los pacientes incluidos son hombres mayores de 18 años con enfermedad de Fabry clásica a los que se administra una sola dosis del vector transformado. El ensayo está aún en marcha, y aunque hay más pacientes incluidos, sólo hay datos publicados para 6 pacientes. Estos están distribuidos en 3 cohortes: los pacientes 1 y 2 pertenecen a la cohorte 1, los pacientes 3 y 4 a la cohorte 2 y los pacientes 5 y 6 a la cohorte 3. Se administraron diferentes dosis del vector: la cohorte 1 recibió la dosis más baja y la cohorte 3 la más alta. Los pacientes 1, 4, 5 y 6 mantuvieron la TRE. Los pacientes 2 y 3 habían recibido TRE, pero se había detenido al menos 6 meses antes del inicio del ensayo. No se utilizó ninguna preparación farmacológica previa con los pacientes.

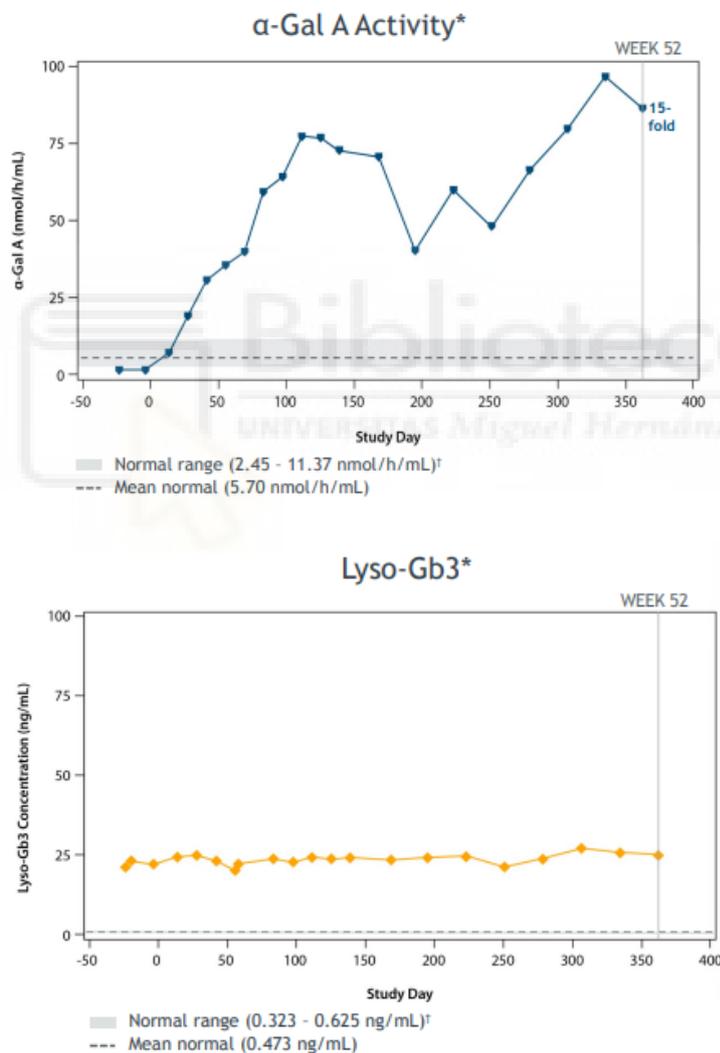
El objetivo principal es evaluar la seguridad y tolerabilidad del tratamiento. Los objetivos secundarios son determinar la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa A y los niveles de liso-Gb3 en plasma a lo largo del tiempo. También comprobar el impacto de esta terapia con respecto a las necesidades de continuar con la TRE, y sobre la función renal y cardíaca, aunque sobre esto último los datos son limitados al estar en ensayo en las fases iniciales.

Después de la administración del tratamiento, la actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa A en plasma se incrementó en los pacientes 1 a 5 por encima de los niveles normales. El paciente 6, el último en incorporarse al ensayo, presentó niveles de actividad enzimáticos normales a partir de la segunda semana de tratamiento (Figura 10).



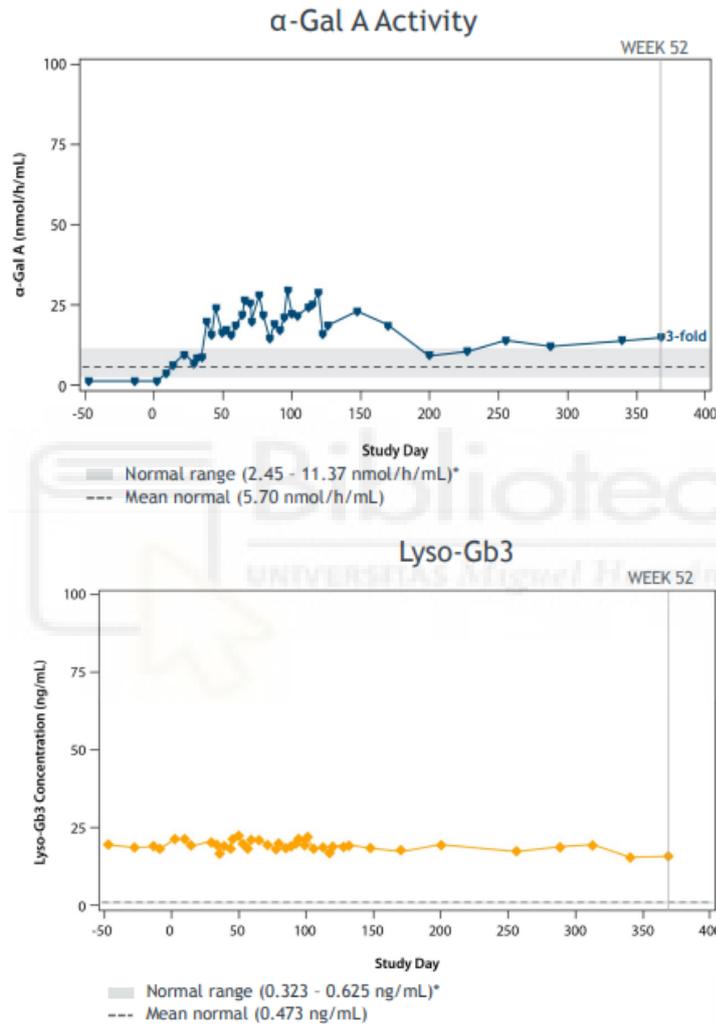
**Figura 10.** Niveles de la actividad de  $\alpha$ -galactosidasa A en la última fecha analizada. Los pacientes 1, 4, 5 y 6 estaban recibiendo TRE, aunque el paciente 4 lo abandonó en la semana 24. La franja horizontal azul claro indica el rango y la línea de puntos indica el valor promedio de la actividad enzimática en un hombre sano, respectivamente<sup>19</sup>.

En el caso del paciente 1, éste mostró una actividad de  $\alpha$ -galactosidasa A por encima de los valores normales en individuos sanos, que se mantuvo al menos durante un año de observación. Los niveles de liso-Gb3 en plasma, aunque no alcanzaron los valores normales de hombres sanos, se mantuvieron constantes (Figura 11). La hipertrofia ventricular izquierda que mostraba al inicio del tratamiento aumentó en el periodo de preinclusión, pero se estabilizó después de un año de tratamiento. El paciente informó sobre la mejoría en los edemas que presentaba en las piernas y también recuperó la capacidad de sudoración.



**Figura 11.** Niveles de la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa A y niveles de liso-Gb3 en plasma a lo largo del ensayo en el paciente 1<sup>19</sup>.

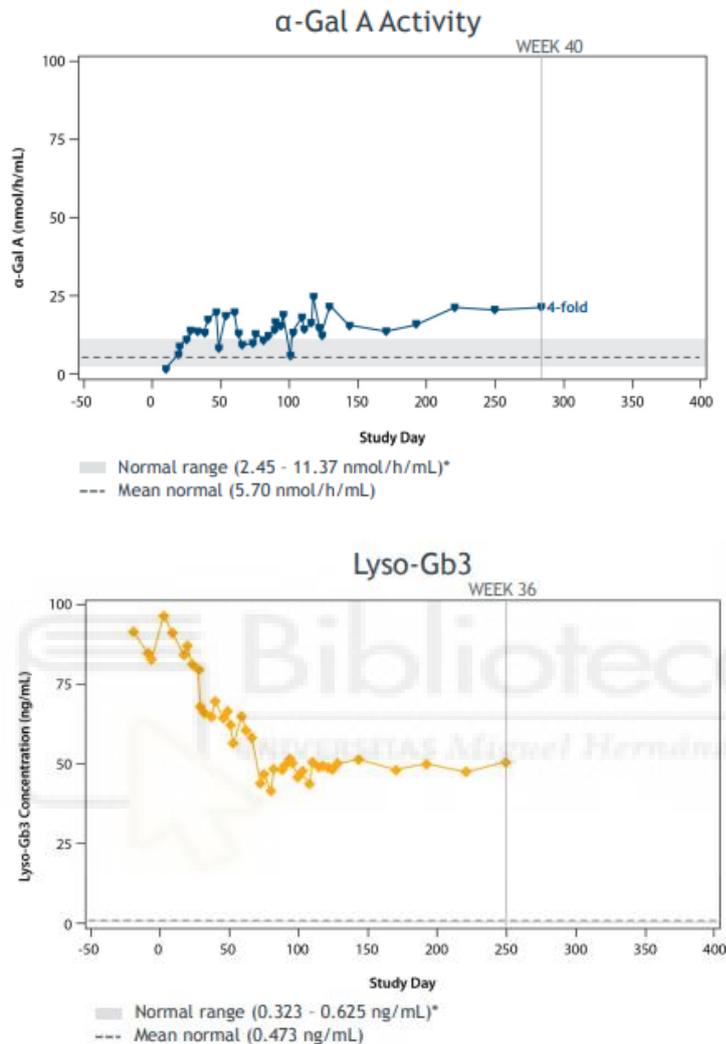
El paciente 2 mostró una actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa A por encima de lo normal a lo largo de un año. Asimismo, mantuvo unos niveles basales constantes bajos de liso-Gb3 que, como en el paciente 1, permanecieron por encima de los niveles normales (Figura 12). Por otro lado, la dilatación biventricular leve que presentaba inicialmente mejoró durante este periodo, y también recuperó la capacidad de sudoración.



**Figura 12.** Niveles de la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa A y niveles de liso-Gb3 plasma a lo largo del ensayo en el paciente 2<sup>19</sup>.

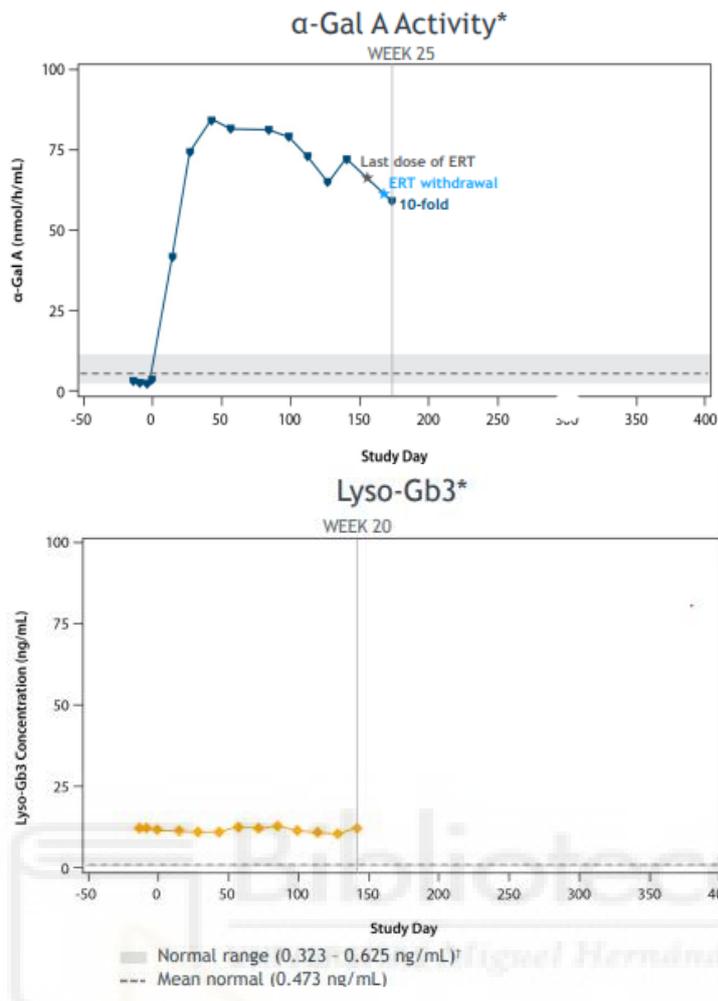
Respecto al paciente 3, se detectó también una actividad de  $\alpha$ -galactosidasa A por encima de los valores normales de manera sostenida hasta el último punto medido en la semana 40. Los niveles de liso-Gb3 en plasma eran muy elevados al inicio del estudio y a medida que éste avanzaba se redujeron

hasta un 40% en las primeras 10 semanas y se mantuvieron estables hasta la semana 36 (Figura 13). Tal y como los dos pacientes anteriores, recobró la capacidad de sudoración.



**Figura 13.** Niveles de la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa A y niveles de liso-Gb3 en plasma a lo largo del ensayo en el paciente 3<sup>19</sup>.

El sujeto 4 presento una actividad de la  $\alpha$ -galactosidasa A de nuevo por encima de lo normal que se mantuvo a lo largo de al menos 25 semanas. Los niveles basales de liso-Gb3 en plasma se mantuvieron estables en el tiempo, y por encima de los valores normales, como en los pacientes 1 y 2 (Figura 14). Le fue retirada la TRE en la semana 24.



**Figura 14.** Niveles de la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa A y niveles de liso-Gb3 plasma a lo largo del ensayo en el paciente 4<sup>19</sup>. En el panel superior se indica el momento en el que se detuvo la TRE (semana 24).

Hasta el momento no se han publicado datos para los pacientes 5 y 6, salvo los que aparecen en la figura 10, pero sí se ha informado de que los niveles de liso-Gb3 se mantienen constantes, como ocurre con los pacientes 1, 2 y 4.

Hasta la fecha, los resultados muestran que este tratamiento es generalmente bien tolerado. No se han dado casos de incrementos exagerados de los niveles de las enzimas hepáticas que requirieran tratamiento con esteroides, tampoco se ha informado de eventos adversos graves relacionados con el tratamiento y todos los eventos adversos registrados fueron de grado leve<sup>19</sup>. Además, todos los pacientes presentan un gran incremento de los niveles de  $\alpha$ -galactosidasa A. En estudios preclínicos con ratones se comprobó que los niveles suprafisiológicos sostenidos de la  $\alpha$ -galactosidasa A se toleran bien y

que, además, son necesarios para promover eficazmente la eliminación de Gb3<sup>20</sup>. Los niveles de liso-Gb3 no descendieron, pero tampoco aumentaron, con excepción del paciente 3 que partía de niveles muy altos y mostró una reducción de casi un 40%. Asimismo, algunos pacientes manifestaron una mejoría de algunos síntomas de esta enfermedad.

En una las últimas actualizaciones de este estudio, en marzo de 2023, se indica que ya hay 13 pacientes incluidos en total, de ambos sexos. Ahora hay 4 cohortes, siendo los individuos de la cuarta los que han recibido la mayor dosis hasta el momento. Se informa de que todos los pacientes han mantenidos unos niveles elevados de la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A durante los dos años que lleva en marcha el ensayo. Además, se ha detenido la TRE a la mayoría de ellos<sup>21</sup>.

Actualmente este ensayo clínico sigue en curso y se ha iniciado la planificación del inicio de la fase 3<sup>18,19</sup>.



## 5. CONCLUSIONES

En este trabajo se han revisado dos ensayos clínicos basados en dos estrategias de terapia génica diferentes para el tratamiento de la enfermedad de Fabry, una patología hereditaria.

El primer ensayo, basado en el uso de un vector LV *ex vivo*, ha presentado buena respuesta por parte de los pacientes, y no se observó ningún efecto adverso preocupante. Además, todos presentaron un aumento en los niveles de la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A, así como una reducción de la acumulación de Gb3 y liso-Gb3, que son los resultados esperados para impedir el progreso de la enfermedad de Fabry. Tres de los cinco pacientes implicados viven actualmente sin utilizar TRE.

En el segundo ensayo clínico se utiliza un vector VAA *in vivo*. Aunque aún está en marcha y se dispone de poca información, hasta el momento se ha demostrado una buena respuesta por parte de todos los pacientes, presentado también un perfil de seguridad favorable durante los dos años de estudio. Se ha observado un gran aumento en los niveles de  $\alpha$ -galactosidasa A, y en ninguno de los pacientes se detectó un aumento en la acumulación de liso-Gb3, de hecho, en uno de ellos hubo un descenso notable. Ninguno de los participantes del ensayo está recibiendo actualmente TRE.

La terapia génica se plantea como uno de los métodos más prometedores a la hora de tratar esta enfermedad, ya que, por el momento, se observan más efectos beneficiosos que adversos para los dos tratamientos evaluados, ambos tienen un buen perfil de seguridad y una eficacia bastante aceptable. Concluyendo, podemos decir que ambas terapias génicas optan a ser una gran puerta abierta a la hora de tratar la enfermedad de Fabry de manera definitiva, aunque es necesario realizar seguimientos a largo plazo.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Platt FM, d'Azzo A, Davidson BL, Neufeld EF, Tiffit CJ. Lysosomal storage diseases. *Nat Rev Dis Primer*. 2018;4(1):27.
2. Sun A. Lysosomal storage disease overview. *Ann Transl Med*. 2018;6(24):476-476.
3. Rare disease [Internet]. Orpha.net. Disponible en: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Expert=324&lng=EN](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=324&lng=EN)
4. Li X, Ren X, Zhang Y, Ding L, Huo M, Li Q. Fabry disease: Mechanism and therapeutics strategies. *Front Pharmacol*. 2022;13:1025740.
5. Amodio F, Caiazza M, Monda E, Rubino M, Capodicasa L, Chiosi F, et al. An Overview of Molecular Mechanisms in Fabry Disease. *Biomolecules*. 2022;12(10):1460.
6. Schiffmann R. Fabry disease. En: *Handbook of Clinical Neurology* [Internet]. Elsevier; 2015. p. 231-48. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444627025000172>
7. Neumann P, Pablo N, Fainboim A. Guía para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de la enfermedad de Fabry. *Med B Aires* 2013;73(5).
8. Ortiz A, Germain DP, Desnick RJ, Politei J, Mauer M, Burlina A, et al. Fabry disease revisited: Management and treatment recommendations for adult patients. *Mol Genet Metab*. 2018;123(4):416-27.
9. Rocchetti MT, Spadaccino F, Catalano V, Zaza G, Stallone G, Fiocco D, et al. Metabolic Fingerprinting of Fabry Disease: Diagnostic and Prognostic Aspects. *Metabolites*. 2022;12(8):703.

10. Spiniello G, Verrillo F, Ricciolino R, Prozzo D, Tuccillo A, Caiazza M, et al. Gene Therapy in Anderson-Fabry Disease. State of the Art and Future Perspectives. *Cardiogenetics*. 2020;10(1):9075.
11. Goicoechea M, Gomez-Preciado F, Benito S, Torras J, Torra R, Huerta A, et al. Predictors of outcome in a Spanish cohort of patients with Fabry disease on enzyme replacement therapy. *Nefrología*. 2021;41(6):652-60.
12. Felis A, Whitlow M, Kraus A, Warnock DG, Wallace E. Current and Investigational Therapeutics for Fabry Disease. *Kidney Int Rep*. 2020;5(4):407-13.
13. Rodríguez-Castejón J, Alarcia-Lacalle A, Gómez-Aguado I, Vicente-Pascual M, Solinís Aspiazu MÁ, Del Pozo-Rodríguez A, et al.  $\alpha$ -Galactosidase A Augmentation by Non-Viral Gene Therapy: Evaluation in Fabry Disease Mice. *Pharmaceutics*. 2021;13(6):771.
14. Bulcha JT, Wang Y, Ma H, Tai PWL, Gao G. Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):53.
15. Rozalén J, Ceña V, Jordán J. Terapia génica. Vectores de expresión. *Offarm*. 2003;22(8):102-8.
16. Ruiz De Garibay AP, Solinís MÁ, Rodríguez-Gascón A. Gene Therapy for Fabry Disease: A Review of the Literature. *BioDrugs*. 2013;27(3):237-46.
17. Khan A, Barber DL, Huang J, Rupar CA, Rip JW, Auray-Blais C, et al. Lentivirus-mediated gene therapy for Fabry disease. *Nat Commun*. 2021;12(1):1178.
18. Ganesh J, Goker-Alpan O, Hopkin RJ, Bernat J, Deegan P, Cao L, et al. Preliminary Results of the STAAR Study, a Phase I/II Study of Isaralgagene

Civaparvovec (ST-920) Gene Therapy in Adults With Fabry Disease. Ponencia presentada en: SSIEM 2022. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium; 2022 Ago-Sept 2; Friburgo, Alemania.

19. Ganesh J, Deegan P, Goker-Alpan O, Hopkin RJ, Bernat JA, Wilcox W et al. Preliminary results of STAAR, a Phase I/II study of isaralgagene civaparvovec (ST-920) gene therapy in adults with Fabry disease and long-term follow-up. Póster presentado en: SSIEM 2022. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium; 2022 Ago 30-Sept 2; Friburgo, Alemania
20. Yasuda M, Huston MW, Pagant S, Gan L, St. Martin S, Sproul S, et al. AAV2/6 Gene Therapy in a Murine Model of Fabry Disease Results in Supraphysiological Enzyme Activity and Effective Substrate Reduction. *Mol Ther - Methods Clin Dev.* 2020;18:607-19.
21. Meglio M. Gene Therapy ST-920 Shows Favorable Impact on Fabry Disease in Phase 1/2 Study [Internet]. *Neurology Live.* 2023. Disponible en: <https://www.neurologylive.com/view/gene-therapy-st-920-shows-favorable-impact-fabry-disease-phase-1-2-study>