

AVANCES CIENTÍFICOS HACIA UNA POSIBLE TERAPIA DE LA ENFERMEDAD DE STARGARDT

JOSÉ MARTÍN NIETO, PROFESOR DE GENÉTICA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA, GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE ALICANTE

DESCRITA Y BELLAMENTE ILUSTRADA POR EL OFTALMÓLOGO ALEMÁN KARL STARGARDT EN 1909, CONSTITUYE LA DEGENERACIÓN MACULAR GENÉTICA MÁS FRECUENTE EN SERES HUMANOS, Y SE ESTIMA QUE AFECTA A MÁS DE 4.000 PERSONAS EN ESPAÑA. SU RELATIVAMENTE BAJA INCIDENCIA EN COMPARACIÓN CON OTRAS FORMAS DE CEGUERA, JUNTO AL HECHO DE QUE LOS CAMPOS VISUALES PERIFÉRICOS GENERALMENTE PERMANECEN NORMALES DURANTE TODA LA VIDA, QUEDANDO LIMITADA LA DEGENERACIÓN AL ÁREA CENTRAL DE LA VISIÓN (MÁCULA), HACE QUE SEA UNA ENFERMEDAD RELATIVAMENTE POCO INVESTIGADA A NIVEL TERAPÉUTICO. NO

OBSTANTE, EN LOS ÚLTIMOS AÑOS SE HAN REALIZADO IMPORTANTES AVANCES EXPERIMENTALES EN LA INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE NUEVOS TRATAMIENTOS DE LA ENFERMEDAD DE STARGARDT, EN LOS CAMPOS DE LA TERAPIA FARMACOLÓGICA, GÉNICA Y DE SUSTITUCIÓN CELULAR, ASÍ COMO DE LOS IMPLANTES RETINIANOS ARTIFICIALES. ESTOS AVANCES, QUE SE RESUMEN EN EL PRESENTE ARTÍCULO, RESULTAN ESPERANZADORES EN RELACIÓN A LA DISPONIBILIDAD DE UNA TERAPIA EFECTIVA POSIBLEMENTE EN LOS PRÓXIMOS AÑOS-DÉCADAS, CAPAZ DE RETRASAR, DETENER O INCLUSO REVERTIR LA PROGRESIÓN DE DICHA ENFERMEDAD.

ENFERMEDAD DE STARGARDT

La enfermedad de Stargardt se debe en la mayoría de los casos a una mutación en el gen **ABCR** (también llamado **ABCA4**), localizado en el cromosoma 1, y constituye la segunda enfermedad hereditaria de la retina más frecuente tras la retinosis pigmentaria (1). Es generalmente recesiva, lo cual quiere decir que es preciso heredar un gen mutado de cada uno de los dos progenitores para padecerla, siendo éstos generalmente sanos salvo raros casos. La proteína normal que codifica dicho gen, llamada **RmP**, desempeña un papel importante en el reciclaje de los pigmentos visuales. Su pérdida de función debida a la mutación hace que se acumule un producto tóxico, abreviado como **A2E** (N-retinilidén-N-retiniletanolamina), en forma de gránulos fluorescentes de **lipofucsina** (un pigmento graso insoluble) en el epitelio pigmentario de la retina (**EPR**), que es la capa de células que recubre a los fotorreceptores (conos y bastones) y los separa de la coroides (2). Como consecuencia de

dicha acumulación, las células del EPR mueren y, dado que una función importante de éstas es el mantenimiento trófico y funcional de los fotorreceptores, su pérdida ocasiona la posterior degeneración de conos y bastones. Se produce así una atrofia de la mácula que, por ser el área de la retina con una mayor concentración de fotorreceptores y pigmentos visuales, es también la región donde más rápidamente se acumulan materiales retinotóxicos. Con ello, la enfermedad de Stargardt conlleva una pérdida progresiva de agudeza visual en el campo central y dificultad en la adaptación a la oscuridad. Esta enfermedad afecta a aprox. 1 de cada 10.000 personas, lo que supone unos 50.000 casos en EEUU junto a la Unión Europea, y sus síntomas aparecen típicamente a los 7-12 años. Una variante clínicamente similar, pero de aparición en la edad juvenil-adulta, progresión más rápida y síntomas más severos, es el llamado fundus flavimaculatus, también derivado de mutaciones en el gen ABCR (1).

TERAPIA GÉNICA

Los resultados obtenidos en los últimos años mediante la introducción de genes en la retina de modelos animales de diversas formas de ceguera ofrecen un futuro prometedor a nivel terapéutico en pacientes (3). En el contexto de la enfermedad de Stargardt, se ha firmado recientemente un acuerdo de colaboración entre la Foundation Fighting Blindness (FFB), o Fundación para la Lucha contra la Ceguera de los EEUU, y la compañía biofarmacéutica inglesa Oxford BioMedica para desarrollar **StarGen** (4), un nuevo tratamiento del Stargardt mediante terapia génica que, de funcionar, sería sin duda revolucionario. En las investigaciones también participará la Universidad de Columbia, y se pretende acelerar todo el proceso para poder comenzar la fase I de ensayos clínicos en pacientes a finales de 2007-principios de 2008. [Existen tres fases en los ensayos clínicos con humanos, antes de que cualquier fármaco o tratamiento pueda comercializarse en los EEUU: I, II y III. Se requiere que haya superado con éxito una fase para pasar a la siguiente; en caso contrario, se descarta. El grado de exigencia, así como el número y ámbito de pacientes ensayados, crece en cada fase, y finalmente se somete a aprobación oficial.] La terapia se basaría en suministrar a la retina de pacientes con Stargardt la versión no mutada del gen ABCR, con el objeto de que en los fotorreceptores se produzca la proteína RmP normal. Para ello se utilizarán como vehículos (vectores) los llamados lentivirus, diseñados para transportar genes al interior de los fotorreceptores tras su inyección intraocular (3). Éstos son virus artificiales inocuos a los que mediante ingeniería genética se les han eliminado los genes patológicos de su material genético, y en su lugar se les ha insertado el gen ABCR correcto. Este tratamiento ha funcionado muy bien y durante un tiempo prolongado a la hora de reducir sustancialmente la acumulación en exceso de A2E en ratones modelo de Stargardt (5), a los que se les ha eliminado el gen Abcr de su genoma (ratones 'knockout') y desarrollan los síntomas típicos de la enfermedad humana. A lo largo de este año se están llevando a cabo experimentos en monos para confirmar su seguridad y establecer dosis adecuadas, antes de pasar a los ensayos clínicos en pacientes.

TERAPIA FARMACOLÓGICA

Se ha firmado un acuerdo multimillonario entre la Universidad de Harvard y la compañía farmacéutica Merck para desarrollar nuevas moléculas (fármacos) que prevengan la acumulación en el ojo de

subproductos tóxicos del ciclo visual (6). Se trataría de acelerar la transferencia de los éxitos experimentales obtenidos en ratones a su aplicación en pacientes con Stargardt o con degeneración macular asociada a la edad, de forma que los ensayos clínicos comiencen cuanto antes. Se utilizarán para ello isoprenoides sintéticos que actúan como antagonistas del ciclo visual, que se abrevian como **TDT** y **TDH** y previenen la acumulación de A2E en ratones con Stargardt (7).

La **fenretinida** (N-4-hidroxifenilretinamida o **HPR**) está ya en fase II de ensayos clínicos, llevados a cabo por la compañía biofarmacéutica especialista en oftalmología Sirion Therapeutics (en Florida), en pacientes con degeneración macular asociada a la edad. Si todo va bien, se ensayará también en personas con Stargardt. Ensayos preclínicos en animales han demostrado que ralentiza la pérdida de visión al detener la formación de lipofucsina en la retina. A diferencia de los isoprenoides anteriores, su mecanismo de acción es indirecto: actúa disminuyendo los niveles de retinol (vitamina A) en el suero (8).

La **isotretinoína** (ácido 13-cis-retinoico) es un derivado de la vitamina A comercializado bajo el nombre de Accutane o Roacután, que se ha utilizado para tratar pacientes con acné severo y que, a raíz de trabajos publicados en 2003, resultó muy prometedor para el tratamiento del Stargardt (9). Sin embargo, las dosis efectivas en ratones 'knockout' a la hora de bloquear la acumulación de lipofucsina son demasiado elevadas (tóxicas) como para aplicarlas a personas: equivaldrían a una dosis 20 veces superior a la utilizada para tratar el acné (¡2-3 g diarios!), por lo que nunca se ha ensayado en enfermos de Stargardt. Adicionalmente, están los efectos laterales observados en el tratamiento del acné: ceguera en oscuridad, hepatotoxicidad, efectos psiquiátricos (depresión, intentos de suicidio), defectos de nacimiento, etc.

TERAPIA DE SUSTITUCIÓN CELULAR

Consiste en suministrar a la retina **células madre** que, una vez implantadas, se diferencien in situ en fotorreceptores y sustituyan estructural y funcionalmente a las células perdidas. Alternativamente, puede realizarse la diferenciación de células madre en el laboratorio (in vitro) y los fotorreceptores (o células precursoras de éstos) obtenidos, transplantarlos intraocularmente (10,11). La FFB está elaborando una "hoja de ruta" para trasladar los más pronto posible a ensayos clínicos los

experimentos de sustitución celular hasta ahora llevados a cabo con éxito en animales modelo de muy diversos tipos de ceguera. Existen ensayos preclínicos muy prometedores a la hora de retrasar la degeneración de la retina, e incluso de restaurar parte de la visión perdida. En Dic. 2006 se celebró una reunión en Washington a la que asistieron doce de los mejores investigadores del mundo sobre terapia de la ceguera con células madre (12). Dicha hoja de ruta incluye el evaluar distintas fuentes y tipos de células madre, así como procedimientos óptimos de trasplante. Este plan estratégico-táctico se llevará a cabo en dos partes: i) Potenciar el avance de terapias orientadas a preservar los fotorreceptores remanentes en pacientes con degeneración leve-moderada de la retina, de forma que éstos puedan conservar su visión actual el resto de su vida. ii) Desarrollar terapias de sustitución celular del tejido retiniano perdido, con la idea de restaurar la visión en pacientes en un estadio avanzado de la degeneración.

En EEUU o en Canadá aún no se están realizando ensayos clínicos en afectos de Stargardt, pero sí en la India, donde en el Centro Rajender Prasad se están inyectando células madre neurales, obtenidas a partir de la médula ósea, en el ojo de pacientes con diversas enfermedades degenerativas de la retina, incluido el Stargardt. El gran problema con las células madre es que no son capaces de repoblar la retina de forma automática para sustituir a las neuronas muertas o dañadas. No sólo deben transformarse en fotorreceptores, sino también sobrevivir e integrarse en la retina, lo cual implica establecer conexiones sinápticas adecuadas y funcionar correctamente (11). Debemos "enseñarlas" a reconstruir el tejido perdido y sólo lentamente –a lo largo de años de investigación– vamos aprendiendo cómo hacerlo.

Otra estrategia son los trasplantes de **células del EPR**, los cuales están permitiendo retrasar la pérdida de visión con éxito en modelos animales de degeneración retiniana (10,13). El gran problema a abordar en humanos es la respuesta inmunológica, por lo que la FFB ha puesto en marcha hasta ahora dos estrategias colaborativas: i) con la compañía biotecnológica Oculex, quien ha desarrollado un dispositivo que libera lentamente un esteroide que previene complicaciones inmunológicas tras el trasplante; ii) con la compañía Neurotech, la cual ha generado células de EPR modificadas genéticamente que previenen la pérdida de visión

en animales sin evocar una respuesta inmunitaria tras su trasplante.

DISPOSITIVOS ELÉCTRICOS Y PROTÉSICOS

El Telescopio Implantable en Miniatura (**IMT**) está siendo ensayado por la compañía VisionCare desde hace más de 5 años en pacientes de edad y degeneración macular (asociada a la edad o Stargardt) avanzadas. Se trata de un microtelescopio de precisión, del tamaño de un guisante, capaz de magnificar las imágenes (2,2-3,0X) y proyectarlas sobre un campo amplio de retina no degenerada (14). Se implanta en un solo ojo con la idea de proporcionar una mejor visión central en éste, mientras que el ojo no implantado se responsabilizaría de la visión periférica (lateral), que permite al sujeto moverse a su alrededor. Las fases II y III han concluido en 2006, con mejoras sustanciales de la visión cercana o lejana constatadas en la gran mayoría de los más de 200 pacientes ensayados, al cabo de 1-2 años tras la implantación. Se espera que esté aprobado oficialmente en los EEUU antes de que finalice este año.

El **IOL-VIP** es un sistema de dos lentes intraoculares para personas con deficiencias en la visión (15) que se está ensayando en Italia en pacientes con degeneración macular. Se ha implantado aún en muy pocas personas con Stargardt, pero todas ellas experimentaron una mejora en su agudeza visual y capacidad de lectura. La cirugía va acompañada de un programa de rehabilitación asistido por ordenador.

La Estimulación con MicroCorrientes (**MCS**) es un procedimiento no invasivo ni doloroso que se lleva ensayando desde hace años, por medio de electrodos aplicados a los párpados cerrados, en pacientes con degeneración macular asociada a la edad, retinosis pigmentaria y Stargardt. Aprox. un 70% de los pacientes mejoraron su función y agudeza visuales. Sin embargo, es un tratamiento que requiere la estimulación de la retina y el nervio óptico con corrientes eléctricas de muy baja intensidad (μA), durante 12 min. dos veces al día durante toda la vida del paciente (16). No representa una cura, aunque tampoco se han presentado casos de efectos laterales o reacciones adversas. Va acompañado de suplementación dietaria con luteína, taurina y ácido docosahexanoico (DHA). Se piensa que la MCS mejora la función del EPR. Se están planeando ensayos clínicos a mayor escala

con pacientes de varios países, incluidos afectos de Stargardt.

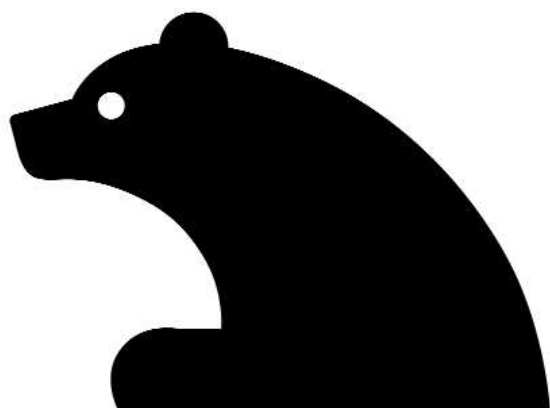
ANÁLISIS GENÉTICO

La información que se obtiene no permite la curación hoy día, pero sí podría ser un paso hacia ella en el futuro. Permitiría en cualquier caso saber qué mutación exacta presenta el gen *ABCR* en cada enfermo concreto. En este contexto, es frecuente que una persona afecta haya recibido de cada uno de sus progenitores una variante mutante distinta del gen. Con ello, se podría confirmar el diagnóstico clínico de Stargardt recesiva (o dominante) y proporcionar consejo genético, o sea, estimar la probabilidad de transmitirla a sus descendientes. En algunos casos, puede incluso tener un valor pronóstico. El análisis genético de personas con Stargardt está bastante centralizado a nivel europeo en la compañía **Asper Ophthalmics**, quien ha desarrollado un chip de ADN, llamado 'APEX genotyping microarray', que permite el escrutinio de 496 mutaciones distintas y, con ello, cubrir un 95% de los afectos (17). Basta con enviarles por courier una muestra de ADN genómico extraído de la sangre a su sede en Estonia, y ellos remiten los resultados en un plazo de 3-6 semanas. En cualquier caso, es una posibilidad que cada paciente debe discutir con su oftalmólogo. En España existen 6 grupos de investigación, en hospitales y universidades de Vigo, Madrid, Barcelona, Sevilla y Valencia, que constituyen la red **EsRetNet** y han analizado recientemente el espectro de mutaciones presentes en el gen *ABCR* en 75 pacientes de Stargardt, encontrando que existe una variante mutante del gen mayoritaria en nuestro país (18).

CONSEJOS PRÁCTICOS

Se recomienda a las personas con Stargardt, con el objeto de ralentizar en la mayor medida posible la progresión de su enfermedad: i) Evitar la exposición a la luz del sol o a luz brillante en la medida de todo lo posible, y usar gafas protectoras contra la radiación UV en estas condiciones (19). Se ha demostrado en ratones 'knockout' para el gen *Abcr* que la presencia de luz acelera la pérdida de visión, al acumularse más rápidamente materiales tóxicos en la retina. Algunos oftalmólogos incluso recomiendan llevar en todo momento unas gafas con filtros rojos especiales, que eviten el funcionamiento del ciclo visual de los bastones. ii) Utilizar gafas de aumento en interiores para tareas que requieren una cierta utilización intensiva de la mácula. iii) No suplementar la dieta con vitamina A o carotenoides (1). Puede resultar contraproducente, dado que se ha constatado en animales de experimentación que la reducción (con fenretinida) de los niveles de vitamina A en el suero detiene la acumulación de A2E y lipofucsina en la retina (8). iv) Participar en un programa de rehabilitación visual para utilizar con mayor eficacia la visión periférica, aunque la mayoría de los enfermos de Stargardt lo consiguen bastante bien (2).

PARA CONSULTAR LAS REFERENCIAS
DE ESTE ARTÍCULO
VER LA EDICIÓN DIGITAL
DE ESTA REVISTA EN
WWW.RETINOSIS.ORG



OBRA SOCIAL

LA OBRA SOCIAL CAJA DE MADRID
COLABORA CON FARPE EN LA LUCHA CONTRA LA CEGUERA

Para mayor información

1. Coco Martín, R.M. (2004) Fundus flavimaculatus y enfermedad de Stargardt. *Visión* 25: 12-17.
2. Sunness, J.S. (2006) Stargardt Disease. Information for patients and their families. <http://www.mdsupport.org/library/stargardt2.html>
3. Martín Nieto, J. y Cuenca Navarro, N. (2006) Presente y futuro de la terapia génica de la retinosis pigmentaria. *Visión* 29: 16–21.
4. Shaberman, B.A. (2006) Terapia génica para el gen ABCA: enfermedad de Stargardt. <http://www.retinosis.org/actualidad/?p=161>
5. Kong, J., Kim, S.R., Binley, K., Doi, K., Naylor, S., Sparrow, J.R., Gouras, P. and Allikmets, R. (2007) Efficient delivery of genes into photoreceptors by lentiviral vectors: Application for treatment of Stargardt disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 48: ARVO E-Abstract 1679.
6. Lacey, J. (2006) Harvard Medical School completes multimillion-dollar license agreement with Merck to develop potential therapy for macular degeneration. http://www.researchmatters.harvard.edu/story.php?article_id=1104
7. Maiti, P., Kong, J., Kim, S.R., Sparrow, J.R., Allikmets, R. and Rando, R.R. (2006) Small molecule RPE65 antagonists limit the visual cycle and prevent lipofuscin formation. *Biochemistry* 45: 852-860.
8. Radu, R.A., Han, Y., Bui, T.V., Nusinowitz, S., Bok, D., Lichter, J., Widder, K., Travis, G.H. and Mata, N.L. (2005) Reductions in serum vitamin A arrest accumulation of toxic retinal fluorophores: A potential therapy for treatment of lipofuscin-based retinal diseases. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 46: 4393-4401.
9. Sparrow, J.R. (2003) Therapy for macular degeneration: Insights from acne. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 100: 4353-4354.
10. Walker, D. (2007) Rotarian Cancer Support Group. <http://dwp.bigplanet.com/dist7620/eyes1macdegen>
11. Cuenca, N. (2005) Utilización de neurotrofinas y células madre como posible opción terapéutica de la RP. *Visión* 26: 8-12.
12. Shaberman, B.A. (2007) Stem cells for the treatment of inherited retinal diseases. <http://www.blindness.org/research.asp?id=295&type=5&print=1>
13. Pinilla, I., Cuenca, N., Sauvé, Y., Wang, S. and Lund, R.D. (2007) Preservation of outer retina and its synaptic connectivity following subretinal injections of human RPE cells in the Royal College of Surgeons rat. *Experimental Eye Research* 85: 381-392.
14. VisionCare (2006) Implantable Miniature Telescope (IMT) for AMD and Stargardt's disease. <http://www.mdsupport.org/library/imt.html>
15. Orzalesi, N., Pierrottet, C.O., Zenoni, S. and Savaresi, C. (2007) The IOL-Vip System: A double intraocular lens implant for visual rehabilitation of patients with macular disease. *Ophthalmology* 114: 860-865.
16. Paul, E.I. (2002) Treatment of retinal diseases with Micro Current Stimulation. http://www.naturaleyecare.com/geninfo.asp?g_num=33
17. ASPER Ophthalmics (2007) ABCR genetic testing. <http://www.asperophthalmics.com/ABCRgenetest.htm>
18. Valverde, D., Riveiro-Alvarez, R., Bernal, S., Jaakson, K., Baiget, M., Navarro, R. and Ayuso C. (2006) Microarray-based mutation analysis of the ABCA4 gene in Spanish patients with Stargardt disease: evidence of a prevalent mutated allele. *Molecular Vision* 12: 902-908.E