

TIK-201 - unikátny vzorec HDAC spomaľovača na možné liečenie spinálnej muskulárnej atrofie (SMA)

Spinálna svalová atfia - pozadie choroby

Spinálna svalová atfia (SMA) je autosomálne recesívne ochorenie charakteristické degenerovaním šedej hmoty miechy na vnútornej strane chrbtice, ktoré vedie k paralýze svalov spolu so svalovou atrofiou. Hoci je to tzv. vzácne ochorenie, je SMA jedným z najrozšírejších autosomálnych recesívnych ochorení u detí a má vedúce postavenie medzi smrteľnými genetickými ochoreniami detí a batôľat. SMA sa vyskytuje porovnateľne často ako cystická fibróza, Duchenova muskulárna dystrofia (DMD) a kosákovitá anémia (chudokrvnosť), pričom pravdepodobnosť výskytu je 1 na 8 000 až 10 000 novonarodených detí¹. Pacienti so SMA buď vôbec nenadobudnú, alebo postupne strácajú schopnosť chodiť, sedieť, stáť a poprípade hýbať sa. Ochorenie nezasahuje schopnosť rozpoznávania, intelekt, emocionálny vývoj a senzorické nervy.

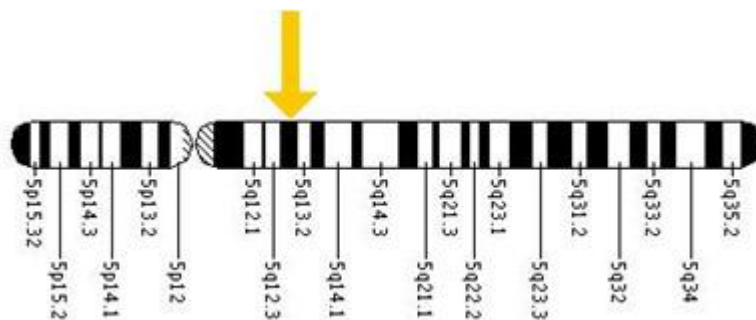
Rozoznávajú sa štyri druhy SMA v závislosti od veku, kedy došlo k začiatku prejavov, od maximálnej dosiahnutej svalovej aktivity a od veku, ktorého sa nositeľ SMA dožije:

- Typ I - infantilná SMA (Weringovo-Hoffmanovo ochorenie)
- Typ II - infantilná chronická SMA
- Typ III - Wohlfartovo-Kugelbergovo-Welanderovo ochorenie, t.j. SMA s nábehom vo veku batôľat'a až po obdobie dospelovania
- Typ IV - SMA s nábehom v období dospelosti

Viac ako 50% detí so SMA typu I zomiera pred dosiahnutím veku dvoch rokov. Pri SMA typu II je progres slabnutia svalov rôzny a mnoho osôb s týmto typom SMA sa dožíva dospelosti. Vyhladky na život pri pacientoch so SMA typu III sú veľmi blízke zdravej populácii. Všetky typy sú spôsobené recesívnymi mutáciami na géne SMN1 (z angl. „survival motor neuron“), pričom nositeľmi týchto mutácií je 1 človek z 35².

Gén SMN1 je umiestnený na dlhom ramene (označuje sa ako q) chromozómu 5 na pozícii 13.

Obrázok 8. Umiestnenie génu SMN1



Štandardne má každá bunka dve kópie génu SMN1. Okolo 95% jedincov so SMA má mutáciu, ktorá odstráni všetky alebo niektoré reťazce DNA v oboch kópiách tohto génu. Ako dôsledok tejto mutácie sa potom vyrobí malý alebo žiaden proteín SMN. Asi 5% ľudí s týmto

ochorením má na jednej kópii génu SMN1 mutáciu odstránenie a na druhej kópii inú formu mutácie, ktorá ovplyvňuje stavebné bloky (aminokyseliny) používané na tvorbu proteínu SMN. Výskumníci identifikovali skoro 30 mutácií, ktoré ovplyvňujú aminokyseliny a oslabujú funkciu proteínu SMN2.

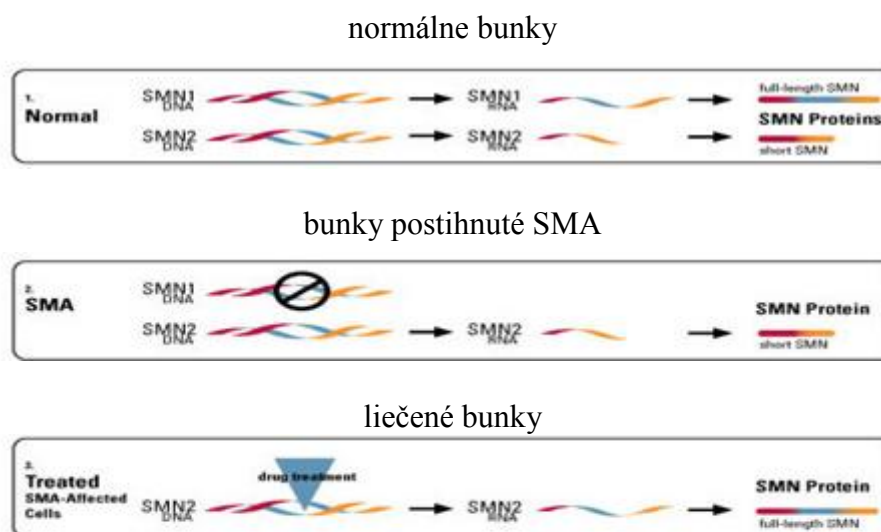
Hoci sa proteín SMN nachádza v bunkách po celom tele, nie je jasné, prečo sú práve motorické neuróny citlivé na jeho skrátenie. Vedci sa domnievajú, že skrátenie proteínu SMN spôsobuje neefektívnu tvorbu mechanizmu, ktorý je potrebný na spracovanie pre-mRNA. Bez dospelaj mRNA je narušená produkcia proteínov potrebných pre rast a činnosť buniek. Motorické neuróny môžu byť citlivé hlavne na toto narušenie a tieto nervové bunky potom zomierajú. Niektoré vedecké výskumy naznačujú, že skrátenie proteínu SMN oslabuje tvorbu a funkciu axónov a dentritov, čo narušuje vitálne činnosti a nervové bunky umierajú. Strata motorických neurónov vedie k príznakom a symptómom SMA.

V niektorých prípadoch SMA, predovšetkým pri miernejších typoch, majú postihnutí jedinci tri alebo viac kópií génu SMN2, ktorý je väčšinou identický s génom SMN1. Proteín tvorený viacnásobnými kópiami génu SMN2 môže čiastočne pomôcť kompenzovať redukované množstvo proteínu SMN1. Vo všeobecnosti sú symptómy pri jedincoch s tromi alebo viacerými kópiami génu SMN2 menej vážne a začínajú sa prejavovať neskôr ako pri jedincoch iba s dvoma kópiami tohto génu.

SMA - liečba na zaistenie tvorby proteínu SMN

Na SMA neexistuje žiaden liek a nie je dostupná žiadna liečba. Nastal však významný progres smerom k dosiahnutiu možného liečenia, a to vďaka pokrokom v chápaní mechanizmov molekulárnej genetiky. Keďže fenotyp ochorenia je úmerný počtu prítomných SMN proteínov, je jednou zo stratégií pre farmakologický zásah pri SMA zlepšenie produkcie SMN^{4,5}.

Obrázok 9. Tvorba proteínu SMN



- 1. Väčšina ľudí má gény SMN1 a SMN2. Hlavným produktom génu SMN1 je proteín SMN vo svojej úplnej dĺžke, zatiaľ čo skrátený proteín SMN je hlavným produktom génu SMN2. Oba typy proteínov však môžu byť vyrobené oboma typmi génov.*
- 2. Pri SMA chýba gén SMN1 alebo je nefunkčný, značne sa znižuje množstvo proteínu SMN v jeho úplnej dĺžke. Zostávajúci gén SMN2 je však stále schopný produkovať nejaké úplné proteíny.*
- 3. Cieľom liečby pomocou liekov je zvýšiť množstvo úplného SMN proteínu produkovaného pomocou inštrukcií z génu SMN2.*

Boli identifikované aktívne činitele, vrátane spomaľovačov histónu deacetylázy (HDAC), ktoré dokážu zvýšiť hladinu proteínu SMN. TIK-201 vykazuje spomaľovaciu aktivitu HDAC. Spomaľovače HDAC boli vyvinuté predovšetkým pre hematologické a onkologické prejavy. Niektoré HDAC inhibítory, ako napr. fenylbutyrát sodný, sa ukázali ako činitele, ktoré významne zvyšujú účinok transkriptu SMN v oboch kultúrach fibroblastu a v leukocytoch od pacientov so SMA^{6,7}. Chang a kol. zistili, že butyrát sodný zvýšil v bunkových kultúrach pacientov so SMA, ktoré obsahovali leukocyty, množstvo SMN proteínu obsahujúceho exón 7 zmenou náhradného vzoru spájania exónu 7 v géne SMN2. Ústne podávanie butyrátu sodného krížencom heterozygótnych tehotných transgenických myší so symptómami SMA (po angl. „heterozygous pregnant knockout-transgenic SMA-like mouse“) znížilo pomer narodených myší s vážnym typom SMA a symptómy SMA boli zlepšené pre všetky tri typy myší so SMA⁸. Andreassi a kol. zistili v kultúrach fibroblastu od pacientov so SMA I, SMA II alebo SMA III výrazný nárast účinku génu SMN2 (nárast transkriptov SMN2 od 50 do 160% pri SMA I a od 80 do 400% pri SMA II a SMA III) a miernejší nárast účinku SMN proteínu ako odpoveď na liečenie pomocou 4-fenylbutyrátu⁶.

SMA – Uverejnené klinické skúšky s fenylbutyrátom sodným

Poznatky z otvorenej pilotnej štúdie, využívajúcej prerušované dávkovanie, navrhli, aby liečenie pomocou fenylbutyrátu pri pacientoch so SMA typu II zlepšilo motorickú funkciu⁹ a tí istí vyšetровatelia následne viedli náhodnú kontrolnú skúšku s placebo, vykonávanú dvakrát naslepo, ktorá zahŕňala desať centier v Taliansku¹⁰. Bolo náhodne určených 107 detí, ktoré dostávali fenylbutyrát (500 mg/kg/deň) alebo prispôsobovacie placebo v prerušovanom režime (7 dní áno/7 dní nie) počas 13 týždňov. V piatom a trinástom týždni boli ako základný spôsob porovnávania výsledkov merané motorické funkcie. Čo sa týka motorických funkcií počas tohto režimu, plánu a relatívne krátkeho času liečenia pri tejto štúdii, fenylbutyrát sa od placebo nelíšil. Dôležité sú však niektoré veľmi vážne námietky týkajúce sa plánovaných štúdií nášho produktu¹⁰.

Problémy s aktuálnymi formami fenylbutyrátu a s predchádzajúcimi návrhmi štúdií

V súčasnosti dostupné formy fenylbutyrátu sodného (prášok, tabletky) sú nepríjemne horkej chuti, nepríjemne smrdia a je komplikované ich náležite pripraviť a dávkovať. Pacienti sa sťažujú predovšetkým v detstve, t.j. deti a batolátá. Trinásť zo 107 pacientov nedokončilo predtým spomínanú štúdiu kvôli odmietnutiu rodičov, zlej tolerancii liekov alebo odmietavým reakciám ich organizmu. Okrem sťažností zaznamenaných počas tejto štúdie bol pozorovaný trochu väčší placebo efekt a tento mohol byť znásobený aj pomerne krátkym trvaním štúdie a rozvrhom podávania liekov (t.j. 13 týždňová štúdia so 7 dňovým liečením, resp. následným nepodávaním liekov). Vyšetровatelia vo svojej správe uviedli, a bolo to viackrát zopakované

v sprievodnom úvodníku¹¹, že by mal byť testovaný dlhší čas liečenia. Názoroví lídri v tejto oblasti, vrátane tých, ktorých vstupy z „**concerning study design**“ štúdií spoločnosť Tikvah Therapeutics prijala, naznačili, že na merateľné obnovenie motorických funkcií môže byť požadovaná dlhšia doba liečenia (3 až 6 mesiacov) s nepretržitým dávkovaním lieku.

Tikvah Therapeutics – Plány pre TIK-201 pri SMA

Tikvah Therapeutics bude pracovať spolu s FDA a špičkovými klinickými vyšetrovateľmi v oblasti SMA na vývoji kontrolovanej skúšky v rámci čo možno najväčšieho počtu klinických centier s cieľom zhodnotiť našu unikátnu formu lieku TIK-201 v liečení SMA.

Ďalšie možnosti pre TIK-201

Okrem štúdií plánovaných na podporu rozpoznania SMA, môže Tikvah Therapeutics realizovať vývoj tejto jedinečnej formy aj v liečení amyotrofickej laterálnej sklerózy (ALS). Plánujeme vyšetriť klinický potenciál TIK-201 na zvýšenie alebo modifikáciu dôležitých proteínov zapojených v patogenéze ALS. Niektoré štúdie ukazujú, že pokles množstva génov SMN1 v každej bunke môže súvisieť nárastom rizika vývoja ALS. Tieto štúdie zistili, že ľudia s ALS mali v porovnaní s ľuďmi netrpiacimi týmto ochorením s väčšou pravdepodobnosťou iba jednu kópiu génu SMN1 v každej bunke namiesto zvyčajných dvoch kópií. Produkcia menšieho množstva proteínu SMN je výsledkom redukovaného množstva génov SMN1. Výskumníci sa zamýšľajú nad tým, že ľudia s redukovaným množstvom proteínu SMN majú väčšiu šancu na to, aby sa u nich vyvinula ALS. Prvotné nálezy na modeloch myši s ALS ukazujú, že spomaľovač HDAC - fenylbutyrát - môže napomôcť prežitiu motorických neurónov a môže zlepšiť progresiu ochorenia¹³.

VYBRANÁ LITERATÚRA

1. Hirtz D, Iannaccone S, Heemskerk J, Gwinn-Hardy K, Moxley, R, Rowland LP. Challenges and opportunities in clinical trials for spinal muscular atrophy. *Neurology* 2005;65:1352-1357.
2. Genetics Home Reference. [Internet] Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2003- [updated 2007 Feb 27; cited 2007 Mar 3] SMN1. Available from <http://ghr.nlm.nih.gov/gene=smn1>.
3. Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995;80:155-165.
4. Feldkotter M, Schwarzer V, Wirth R, et al. Quantitative analysis of SMN1 and SMN2 based on real-time LightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet* 2002;70:358-368.
5. Lefebvre S, Burlet P, Liu Q, et al. Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nat Genet* 1997;16:265-269.
6. Andreassi C, Angelozzi C, Tiziano FD, et al. Phenylbutyrate increases SMN expression in vitro: relevance for treatment of spinal muscular atrophy. *Eur J Hum Genet* 2004;12:59-65.
7. Brahe C, Vitali T, Tiziano FD, et al. Phenylbutyrate increases SMN gene expression in spinal muscular atrophy patients. *Eur J Hum Genet* 2005;13:256-259.

8. Chang JG, Hsieh-Li HM, Jong YJ, Wang NM, Tsai CH, Li H. Treatment of spinal muscular atrophy by sodium butyrate. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:9808-9813.
9. Mercuri E, Bertini E, Messina S, et al: Pilot trial of phenylbutyrate in spinal muscular atrophy. *Neuromusc Disord* 2004;14:130-135.
10. Mercuri E, Bertini E, Messina S, et al: Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of phenylbutyrate in spinal muscular atrophy *Neurology* 2007;68:51-55.
11. Kaufmann P and Finkel R. Learning to walk - challenges for spinal muscular atrophy clinical trials. *Neurology* 2007;68:11-12.
12. Brusilow SW, Maestri NE. Urea cycle disorders: diagnosis, pathophysiology, and therapy. *Adv Pediatr* 1996;43:127-170.
13. Ryu H, Smith K, Camelo SI, et al. Sodium phenylbutyrate prolongs survival and regulates expression of anti-apoptotic genes in transgenic amyotrophic lateral sclerosis mice. *J Neurochem* 2005;93:1087–1098.

Zdroj:

<http://www.tikvahtherapeutics.com/201.html>

Pre potreby OMD v SR preložil:

Filip Zeman, august 2008