

Duchenneova muskulárna dystrofia

Zhrnutie dôležitých výsledkov výskumu medzi júlom a decembrom 2006

Časť tu zhrnutých nových výsledkov výskumu pochádza z prednášok, ktoré boli prednesené na konferencii britského programu Parent Project v Londýne 21. októbra 2006, zvyšok pochádza zo zverejnení a mnohých osobných e-mailov. Nové informácie nadväzujú čiastočne na správu, ktorú som napísal z ročného zasadania amerického programu Parent Project Muscular Dystrophy, ktoré sa konalo od 13. do 16. júla 2006 v Cincinnati/Ohio v USA. Táto správa a všetky predchádzajúce sa nachádzajú na mojej internetovej stránke www.duchenne-forschung.de v nemčine, angličtine a španielčine a dajú sa stiahnuť vo formáte pdf. Spomínaní výskumníci sa tu nazývajú bez titulov, často len krstnými menami ako je to bežné v medzinárodnom spoločenstve, zaoberajúcom sa Duchennovou dystrofiou. Takmer všetci sú profesori a majú prírodovedecký (PhD.) alebo lekársky (MD.) titul doktor alebo oboje.

Klinická štúdia exón-skipping v Holandsku:

Judith van Deutekom povedala v Londýne, že štyria chlapci s Duchennovou dystrofiou, ktorí sa na nej zúčastnili, dostali jediné injekcie 3-O-metyl-AON do píšťalového svalu, Tibialis anterior, proti exónu 51. U všetkých štyroch sa neprejavili žiadne vedľajšie účinky. Dvom chlapcom urobili biopsiu už po liečbe a analyzovali u nich novo vytvorený skrátenejší dystrofín. Judith povedala, že tieto predbežné výsledky sú „promising“, teda sľubné, viac však povedať nesmela.

Judith povedala na konci svojej prednášky: „Mali by sme byť opatrní, pretože „*we are not there yet*“, ešte tam nie sme. Keď exón skipping funguje u jedného chlapca, to neznamená, že to tak bude aj u ostatných. Teraz sme liečili len celkom malé miesto v svali, a táto lokálna liečba nie je to, čo potrebujeme. Potrebujeme systematickú liečbu, ktorá zasiahne všetky svaly, a to sa dá len injekciami do krvného obehu. Predtým než to u detí budúci rok skúsime – použiť techniku skipping pri exóne 46 -, musíme zvoliť ešte správne AON a správne dávkovanie.“ „*But we will get there*“, ale my to dokážeme, odvetila Judith.

Klinická štúdia exón-skipping v Anglicku:

Francesco Muntoni vedie štúdiu v Anglicku, pripravenú konzorciom MDEX, v ktorej sa používa morfolíno-AON na korigovanie exónu 51 technikou skipping, lokálnym podaním injekcie do svalu nohy EDB, Extensor digitorum brevis. Francesco odpovedal 18. decembra na moje otázky: „Dve z troch povolení sú teraz tu a len čo príde tretie, pustíme prvého chlapca do štúdie, to bude pravdepodobne prvý týždeň v marci 2007.“

Neoznámia žiaden predbežný záver štúdie, ale až keď analyzujú a overia spolu všetky výsledky, dajú ich k dispozícii na zverejnenie. Pokiaľ bude táto prvá štúdia úspešná, začnú v druhom polroku 2007 s plánovanou systematickou štúdiou. Jej výsledky predložia v r. 2008. Keď to všetko dobre prebehne, potom môžu začať komerčnú výrobu AON vo veľkom a rozsiahle klinické štúdie.

Morfolíny idú predsa do srdca:

Pri systematickom používaní morfolíno-AON sa ich doteraz nepodarilo dostať aj do srdcového svalu mdx-myši. To bol veľký nedostatok morfolínov, ktoré chcú použiť Angličania v porovnaní s 2-O-metylom, s ktorým pracujú Holanďania, a ktorí robia aj v srdciach myši exón-skipping. Dominic Wells oznámil v Londýne, že morfolíny idú predsa do srdca myši, keď súčasne podajú pri injekcii do krvného obehu kontrastnú látku Optison – to sú mikroalbumínové bubliny - a pritom sa cielene zameria na srdce ultrazvuk so zvyčajným ultrazvukovým prístrojom. Ultrazvuk otvorí póry v membránach svalových buniek, morfolíny môžu prekĺznuť, a keď ultrazvuk prestane pôsobiť, póry sa opäť zatvoria. V kostrových svaloch sa tým exón-skipping neovplyvní. Kým sa touto jednoduchou technikou môžu začať klinické pokusy s deťmi, prejde ešte niekoľko rokov.

Exón-skipping s génovým transferom vo Francúzsku:

O týchto pokusoch pracovnej skupiny okolo Luisa Garcíu v Paríži, pri ktorom sa gény pre AON transportujú AAV-vektormi do jadier svalových buniek, som už referoval. Bolo známe, že sa podarilo, urobiť skipping exónu 23 u mdx-myši s predčasným stopkodónom, a to dlhodobo – doteraz najmenej na jeden rok. Luis oznámil v Londýne, že to teraz fungovalo aj u dystrofických psoch, u tých psoch, ktoré sú skutočne veľmi choré a majú asi toľko svalov ako malé dieťa. Majú však komplikovanú mutáciu, ktorá sa dá korigovať len mnohonásobne opakovanou technikou skipping exónov 6, 7 a 8. A napriek tomu sa to podarilo! Naši francúzski priatelia však nemali dostatok vírusov, ktoré obsahovali U₇-RNA a AON-sekvencie, aby sa dal nimi liečiť celý pes. Preto zastavili cirkuláciu krvi v nohe a injekčne podali do jej žíl za 15 minút prakticky všetkých 100 miliárd (10¹⁴ !) preparovaných vírusov. Vyskytli sa edémy, ale bolo to tak dobre, pretože vírusy putovali tam, kam mali. Vzniklo celé množstvo nového skráteneho dystrofinu, ktorý síce nebol celkom rovnomerne rozložený v svaloch nohy, bolo to však približne toľko ako u pacientov s Beckerovou dystrofiou. A po 6 mesiacoch tu stále ešte bol. Teraz sa pripravuje prvá fáza klinickej štúdie s deťmi, trpiacimi Duchennovou dystrofiou, pri ktorej sa má urobiť skipping exónu 51. Táto liečba s vektormi vírusov si bude vyžadovať potlačenie obranyschopnosti.

Luis a jeho ľudia pracujú aj na tom, aby skombinovali túto liečbu s podobným génovým transferom, pri ktorom sa blokuje gén pre myostatin. To sa už vyskúšalo na myšiach, avšak s malým úspechom, pretože svaly myši sa rýchlo regenerujú. Teraz to skúšajú na psoch. Budúci rok majú o tom podať správu.

Klinická štúdia s génovým transferom v USA:

Scott McPhee z firmy Asklepios v Severnej Karolíne, ktorý s Jerrym Mendellom v Kolumbii/Ohio začali malú štúdiu, zaoberajúcu sa distrofinom a génovým transferom s AAV-vektormi, mi 21. decembra oznámil, že teraz štyria zo šiestich chlapcov, prijatých do štúdie, dostali injekcie s biostrofinom do bicepsových svalov. Štvrtý chlapec patril už k druhej skupine trojíc, ktoré dostali vysokú dávku vektorov. Doteraz sa u všetkých chlapcov nevyskytli žiadne rušiacie vedľajšie účinky. Uprostred r. 2007 predložia predbežné výsledky, ktoré potom neodkladne oznámia. Potom zverejnia podrobné konečné údaje.

Ignorovanie predčasného znaku stop s PTC₁₂₄:

Richard Finkel z firmy PTC v New Jersey hovoril v Londýne o podrobnostiach klinickej štúdie so substanciou PTC₁₂₄. Tento úplne nový liek, ktorého štruktúra je utajená, sa môže podávať vo forme tabliet. V teraz skončenej druhej fáze klinickej štúdie s 26 chlapcami, trpiacimi Duchennovou dystrofiou s predčasnými stopkodónmi, sa dalo pri dávke 18

mg/kg/deň a 40 mg/kg/deň po 4 týždňoch liečby u niektorých detí, ktoré dostali vyššiu dávku, dokázať očakávaný dystrofín s normálnou dĺžkou ako predbežný výsledok. Pretože sa v tejto štúdiu a tiež v prvej fáze štúdie nevyskytli žiadne vedľajšie účinky, a pretože množstvo nového dystrofínu je ešte príliš malé, aby malo postačujúci a preukázateľný terapeutický efekt, urobí sa teraz ďalší pokus v druhej fáze s 12 chlapcami, trpiacimi Duchennovou dystrofiou, ktorí potom ale dostanú 80 mg/kg/deň PTC₁₂₄, aby sa udržala koncentrácia najmenej 10 mikrogramov/ml v krvnom sére. Konečné údaje sa zverejnia v priebehu r. 2007, potom sa majú uskutočniť dlhodobé troj až šesťmesačné štúdie.

Dôležité je, že by sa pri tejto terapii jednalo o skutočné liečenie. Keby všetky pokusy prebehli úspešne, pretože nový dystrofín má prakticky normálnu dĺžku, nebol by to už žiaden dystrofín ako pri Beckerovej dystrofii, ako sa dá očakávať pri technike exón skpping. Na druhej strane môže z toho profitovať len 10 až 15 % tých chlapcov s Duchennovou dystrofiou, ktorí majú bodovú mutáciu, ktorá viedla k predčasnému stopkodónu. Preto je dôležité, aby bola známa presná mutácia všetkých chorých chlapcov.

Mesoangioblasty nútia chromých psov opäť behať (tak to bolo vo FAZ):

Jedná sa pritom o kmeňové bunky zo stien krvných ciev, ktoré spôsobili u dystrofických psoch dramatické zlepšenie funkcie, ako oznámili Giulio Cossu a spolupracovníci z Milána vo vydaní Nature z 30. novembra. Toto zverejnenie (v angličtine) a komentár Jeffreyho Chamberlaina ako aj interview s Giuliom (obe v nemčine), sa dajú u mňa vyžiadať e-mailom. Giulio mi napísal 9. decembra, že pravdepodobne vo februári dostanem informácie o jeho prácach, ktoré sa týkajú izolovania týchto kmeňových buniek z ľudského embryonálneho tkaniva krvných kapilár. Také niečo by samozrejme nebolo v Nemecku dovolené. Okrem toho našiel ešte účinný liek („*an efficacious drug*“), ktorý však musí ostať ešte utajený.

Vysoko účinná regulácia utrofínu

Kay Davies z Univerzity Oxford a Jon Tinsley z firmy Vastox v Oxforde oznámili v Londýne, že automatickým testovaním cca. 13 000 chemických zlúčenín našli približne 100, ktoré dokážu vysoko účinne regulovať utrofín v bunkových kultúrach. Niektoré z nich dokázali zvýšiť utrofín o viac než štvornásobok. Ďalej sa chemicky optimujú. Liečba mdx-myši so substanciou VOX 185 dokázala pomocou A-promótoru, vysoko účinne regulovať utrofín prakticky exkluzívne v svaloch, a u myši tak dosiahla podstatné zlepšenie funkcie. Iné experimenty na myšiach už ukázali, že zvýšené množstvo utrofínu o dvoj- až trojnásobok má značné terapeutické účinky. Je nádej, že sa optimovanou zlúčeninou VOX 185 dosiahne vysoko účinná regulácia o päť- až sedemnásobok. Uprostred r. 2007 by mal byť hotový efektívny silný liek, ktorý sa môže podávať vo forme tabliet, aby dosiahol všetky svaly. V ďalších rokoch budú nasledovať potrebné klinické štúdie.

Inhibícia myostatínu:

Firma Wyeth Pharmaceuticals z USA testovala teraz protilátky proti myostatínu MYO-29 na 108 dospelých s ochorením svalov v prvej a druhej fáze klinickej štúdie. Medzi nimi boli aj pacienti s Beckerovou dystrofiou. Štúdia je teraz hotová, výsledky, ktoré sú zjavne pozitívne, oznámia na jar 2007.

Transfer myoblastov opäť funguje:

Jacques Tremblay z Québec City v Kanade ma koncom septembra informoval celkom podrobne o svojich nových pokusoch s transferom myoblastov, ktorý by sa mal teraz nazývať „transfer myogénnych buniek“, aby sa odlišil od podvodov Petra Lawa. V klinickom pokuse

s 9 pacientmi s Duchennovou dystrofiou sa dalo preukázať, že u 8 pacientoch sa zachovalo až do 26% svalových vlákien s novým normálnym dystrofinom po injekcii normálnych myogénnych buniek, ktoré pochádzali zo zdravej rodičovskej vetvy a ktoré sa podali lokálne injekciou do malej oblasti píšťalového svalu v odstupe len 1 – 2 mm. Tohto času sa robí druhá štúdia so svalom, podľa ktorého by sa mohlo potom jednoducho stanoviť funkčné zlepšenie. Tento bunkový transfer by mal niekoľko predností, z ktorých tu spomenieme len nasledujúce: Nový dystrofin by mal normálnu dĺžku, bol by pod kontrolou svojich normálnych kontrolných sekvencií, pozitívny efekt by bol dlhodobý, problémy s imunitou by sa dali riešiť, technika by sa mohla kombinovať s inhibíciou myostatínu, a predovšetkým by sa dalo pomôcť ešte aj starším pacientom s Duchennovou dystrofiou.

*Dr. rer. nat. Günter Scheuerbrandt
V Talgrunde 2, 79874 Breitnau*

Toto zhrnutie som napísal 21. decembra 2006. Kto by chcel dostať moje budúce správy o výskume a interview e-mailom, napíšte mi, prosím Vašu e-mailovú adresu na gscheuerbrandt@t-online.de.

Preklad z nemčiny do slovenčiny podľa Muskelreport 1/2007, Erleichterung bei der Pflege, str. 43

Uľahčenie pri ošetrovaní

(ab) Pre každého ošetrovateľa sú činnosti ako obliekanie a vyzliekanie postihnutej osoby často namáhavé – každý deň sa opakujúce – činnosti. Jedna malá firma tu ponúka pomoc: vlastné oblečenie opracuje tak, že použije farebne zladené zipsy, aby bolo možné obliecť pohybovo postihnutých ľudí bez extrémnej záťaže. Tak ošetrovateľ ako aj osoby, ktoré potrebujú pomoc, ušetria tým množstvo sily a času. Ceny za opracovanie sú výhodné. Pohľad na domovú stránku na internete „Easy Dress“ sprostredkuje prvý dojem o prácach. Žiadosti o informácie a spracovanie posielajte na:

*Easy Dress
Gabriele Surburg
Rottstrasse 46, 67061 Ludwigshafen
Tel.: 0621-566 8228, fax: 0621-588 9215
Internet: www.easy-dress.de*

Preklad z nemčiny do slovenčiny z časopisu Muskelreport 1/2007, Duchenne-Muskeldystrophie, str. 26-29.

**Pre potreby Organizácie muskulárnych dystrofikov v SR
Preložila: Mgr. Renáta Karbanová
Preklad neprešiel odbornou korektúrou.**