



LEIDEN UNIVERSITY MEDICAL CENTER

Overzicht van therapeutische mogelijkheden voor Duchenne spierdystrofie Annemieke Aartsma-Rus

1 oktober 2011



Overzicht

- Wat is de functie van dystrofine?
- Wat gebeurt er als er geen dystrofine is?
- Hoe kunnen mogelijke therapieën deze processen vertragen/voorkomen?
 - Genetische therapieën
 - Cel therapie
 - Medicijnen

Genen en eiwitten

- Eiwitten zijn de bouwstenen van ons lichaam
- Genen bevatten blauwdruk voor eiwitten
- Fout in gen → fout in eiwit
- Genen hebben volume knop
 - Alleen aan in het goede weefsel
- Dystrofine eiwit heeft een functie in spier
- Fout in dystrofine → spier problemen

Spiereen

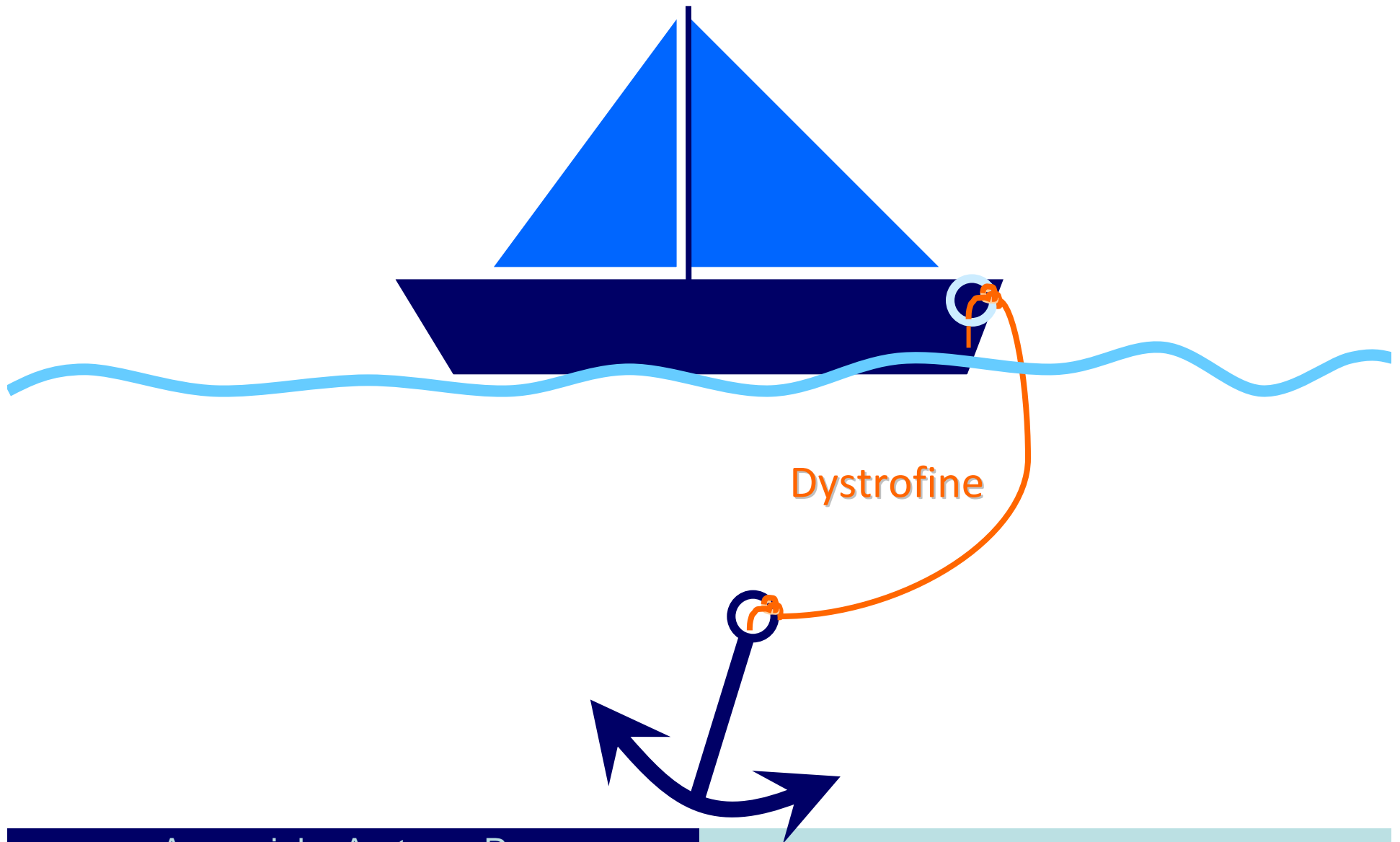
- 30-40% van ons lichaam is spier
 - Spiereen kunnen groter en kleiner worden
 - Spiereen verbruiken veel energie
 - Alleen gehandhaafd als ze nodig zijn
 - Spiereen raken beschadigd na overmatig bewegen
 - Spiereen kunnen schade goed herstellen
- Groter indien nodig



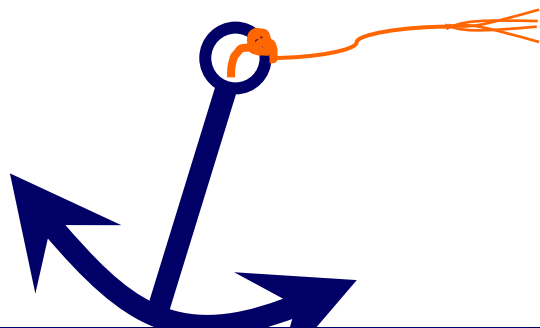
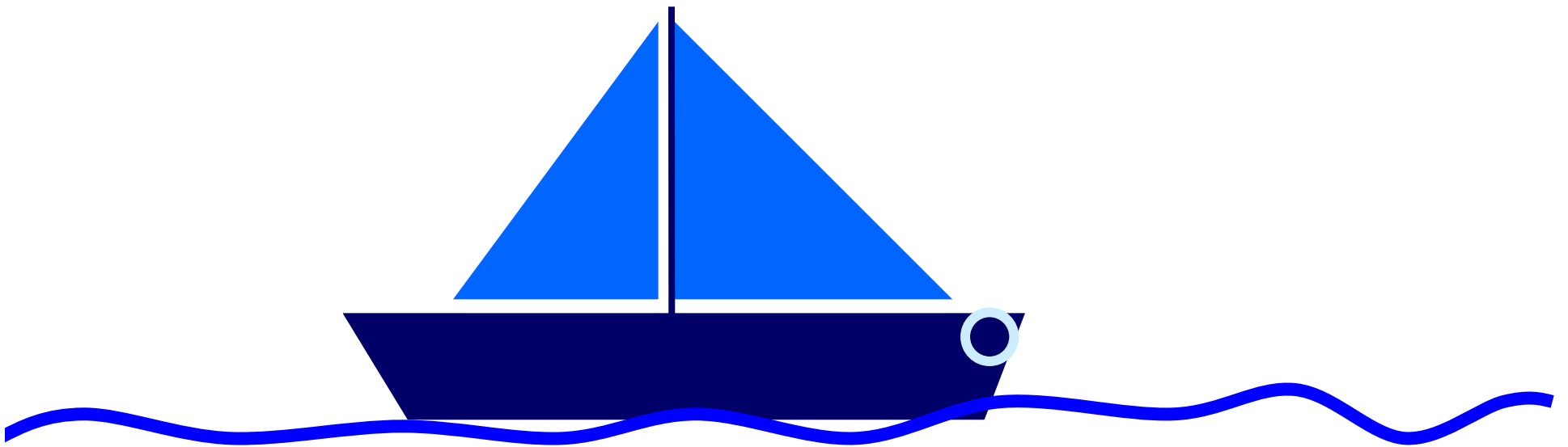
Dystrofine

- Dystrofine verschaft stabiliteit aan spieren tijdens beweging
- Vormt een verbinding tussen skelet in spiercel en bindweefsel dat spiercel omgeeft
- Verbinding verloren: spieren lopen schade op tijdens normale beweging
- Herstelsysteem kan reparatie niet bijhouden
- Verlies van spiermassa en functie

Dystrofine



Duchenne: geen functioneel dystrofine



Geen functioneel dystrofine

Geen dystrofine



Spiervezels lek



Calcium lekt vezels in



Ontsteking



Activatie
proteases



Energie productie
systeem beschadigd



Litteken
weefsel



Meer spierschade



Minder spierherstel



**Verlies spiervezels
Verlies spierfunctie**



Therapeutische mogelijkheden

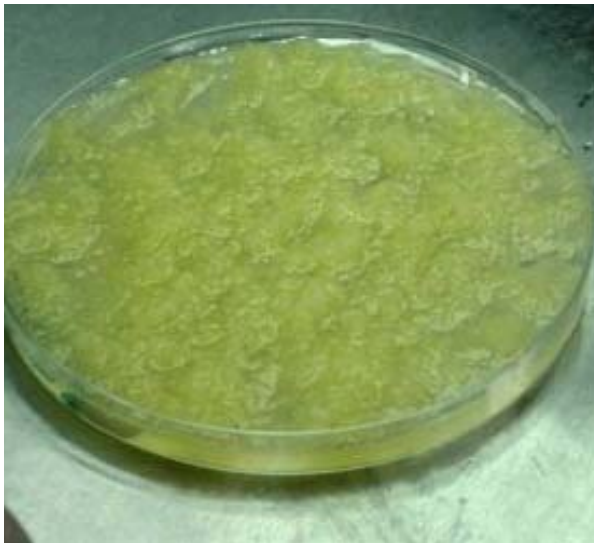
- Gen therapie
- Cel therapie
- Genetische therapie
 - Exon skipping
 - Stop codon negeren
- Medicijnen
 - Utrofine opregulatie
 - Groene thee extract
 - Sildenafil
 - Myostatine remmen

**Herstel/compensatie
dystrofine gebrek**

**Spiere verbeteren
Meer spierweefsel**

Testen therapeutische mogelijkheden

Gekweekte cellen



- Eerste test
- Werkt het?
- Weinig cellen
- Geen bloed
- Geen afweer
- Geen organen

Diermodel



- *Mdx* muis
 - Geen dystrofine
 - Organen, Afweer
- Beperking:
- Goede regeneratie
 - Hoog metabolisme

Patiënten



Fase 1-2:

- Met name: veiligheid
- Geen controle groep

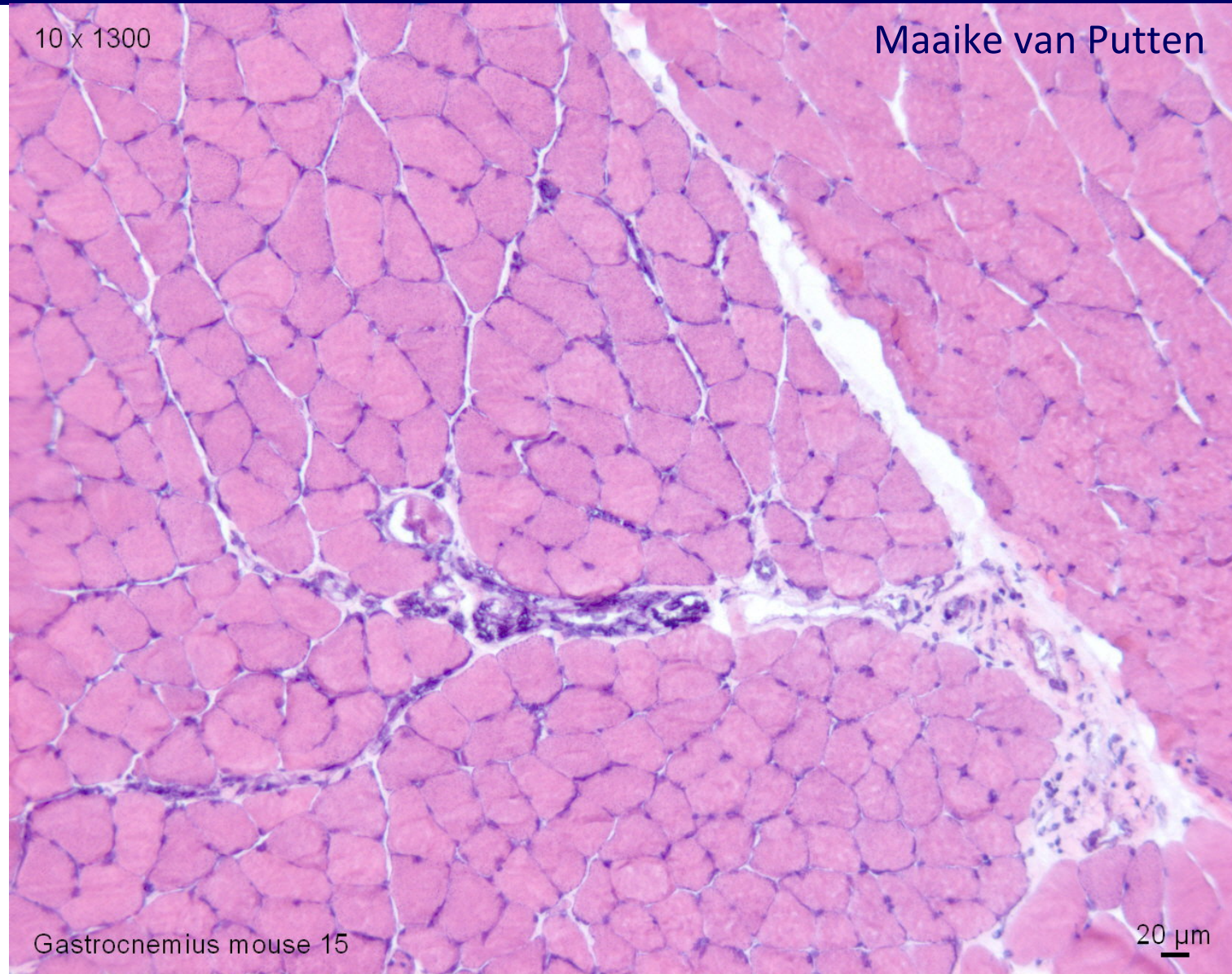
Fase 2-3:

- Effectief?
- Lange termijn veilig?

Gen Therapie

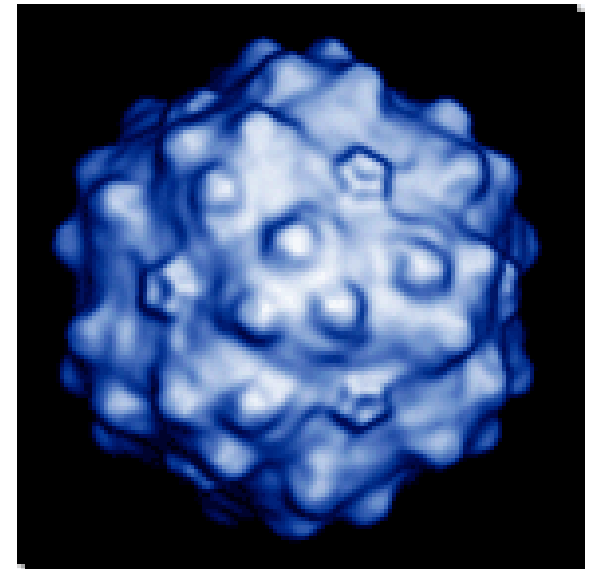
- Functioneel dystrofine gen toevoegen aan spiercellen van patiënten
- Dit gen kan worden gebruikt om dystrofine eiwit te maken
- Toepasbaar voor alle patiënten
- Genen zitten in cel kern
- Hoe genen in de (meerderheid) van kernen van alle spieren krijgen?

Gen Therapie



Virussen

- Gebruiken om dystrofine in cellen in te brengen
- Alleen AAV virus kan spieren infecteren
- Aanpassen
 - Virus genen eruit
 - Nieuwe gen erin (dystrofine)
 - Hele dystrofine gen past niet
 - Microdystrofine

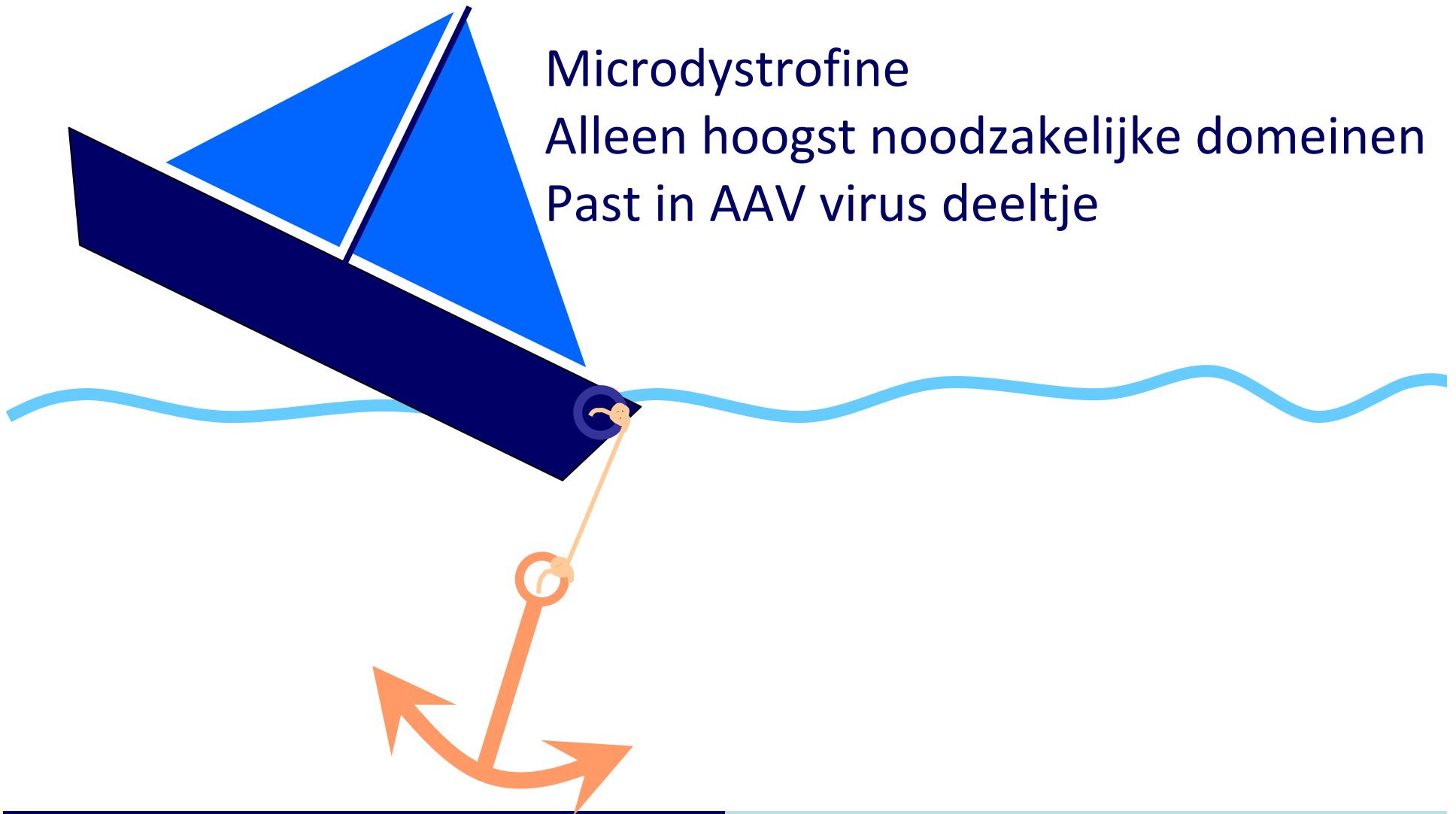


Gen Therapie

Microdystrofine

Alleen hoogst noodzakelijke domeinen

Past in AAV virus deeltje



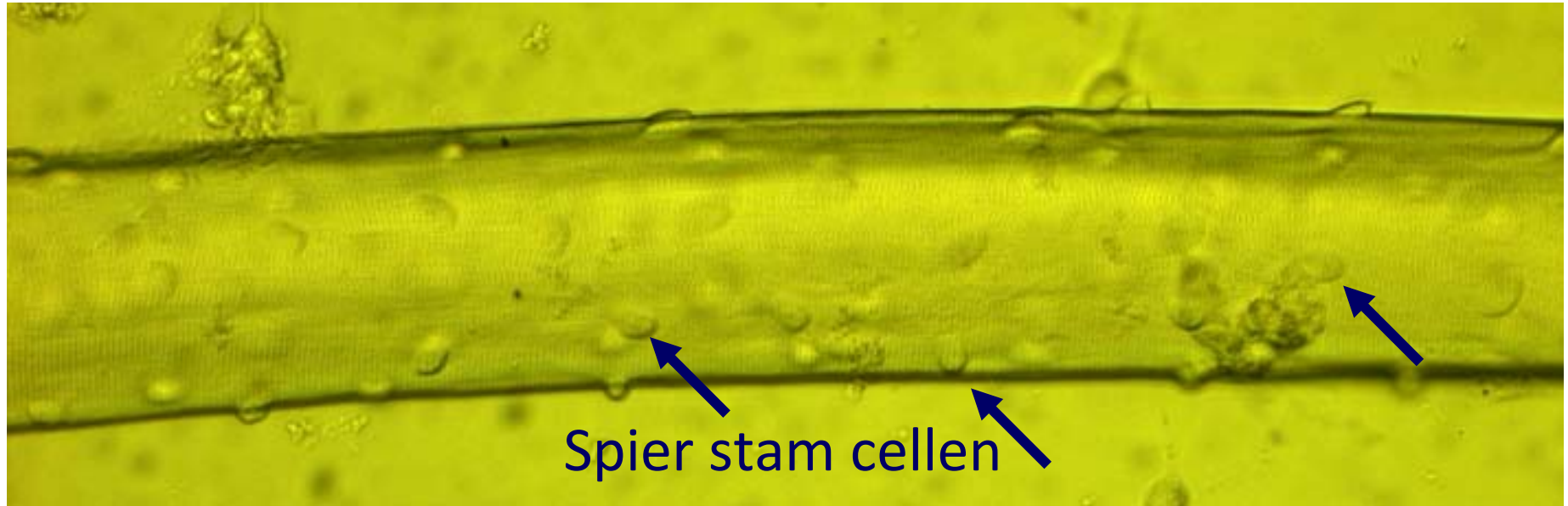
Gen Therapie

- AAV microdystrofine getest in *mdx* muis model
- Microdystrofine → betere spierfunctie en kwaliteit
- Getest in 6 patiënten (Mendell/Samulski, VS)
- Immuun reactie tegen virus
- Dystrofine gevonden in 2 patiënten (2-3 vezels)

Toekomst gen therapie

- Mendell/Samulski (VS)
 - Voorbereidingen studie: heel ledemaat
 - Afweer systeem onderdrukken
- Chamberlain (VS)
 - Voorbereiding: locale studie met andere AAVs
 - Met/zonder onder afweer onderdrukken

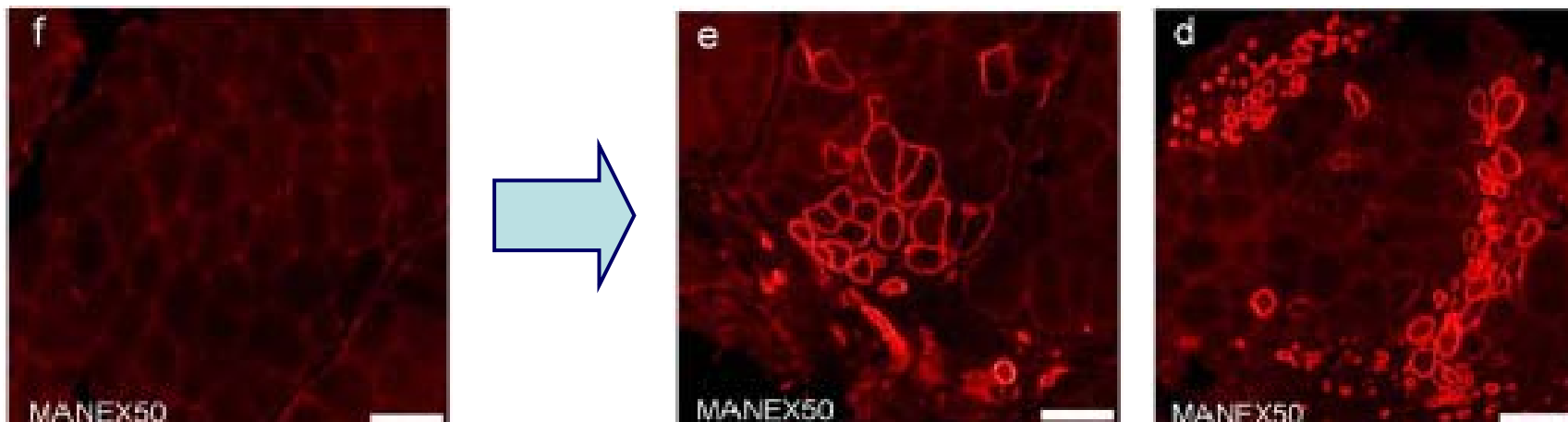
Cell therapy



- Spier stem cellen gezonde donor isoleren
- Vermeerderen in het lab
- In patiënten transplanteren

Spierstamcellen (myoblasten)

- Afweer reactie (onderdrukken)
- Komen niet uit bloedbaan
- Locale injectie: blijven op injectie plaats
- Tremblay (Canada): meerdere locale injecties
 - Dystrofine herstel
 - Niet haalbaar voor grote spieren



Cel therapie

Vaatwand, bot en vet stamcellen

- Kunnen uit bloedbaan spier in migreren
- Efficiëntie heel laag

Mesangioblasts veelbelovend

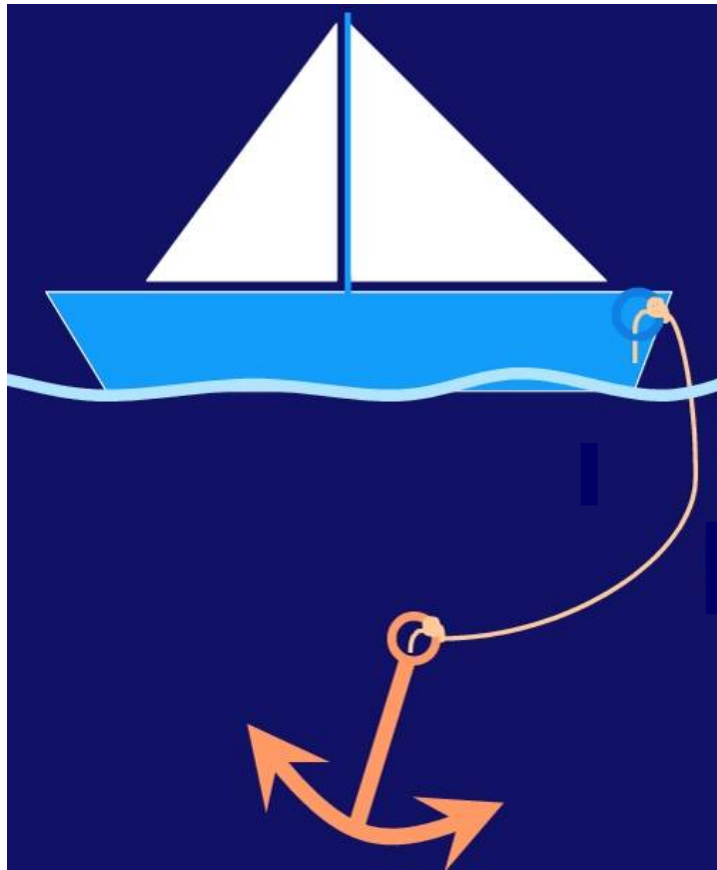
- Mooie resultaten in honden model
- Klinische studie gaande in Italie (Giulio Cossu)

Stamcel toerisme

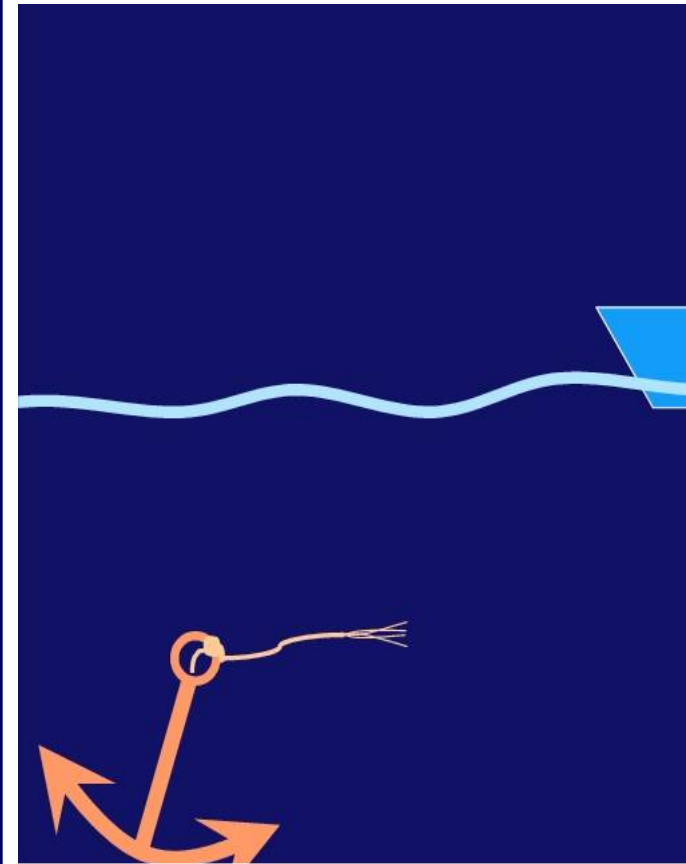
- Geen bewijs dat stamcellen voor Duchenne werken of veilig zijn!

Exon skippen

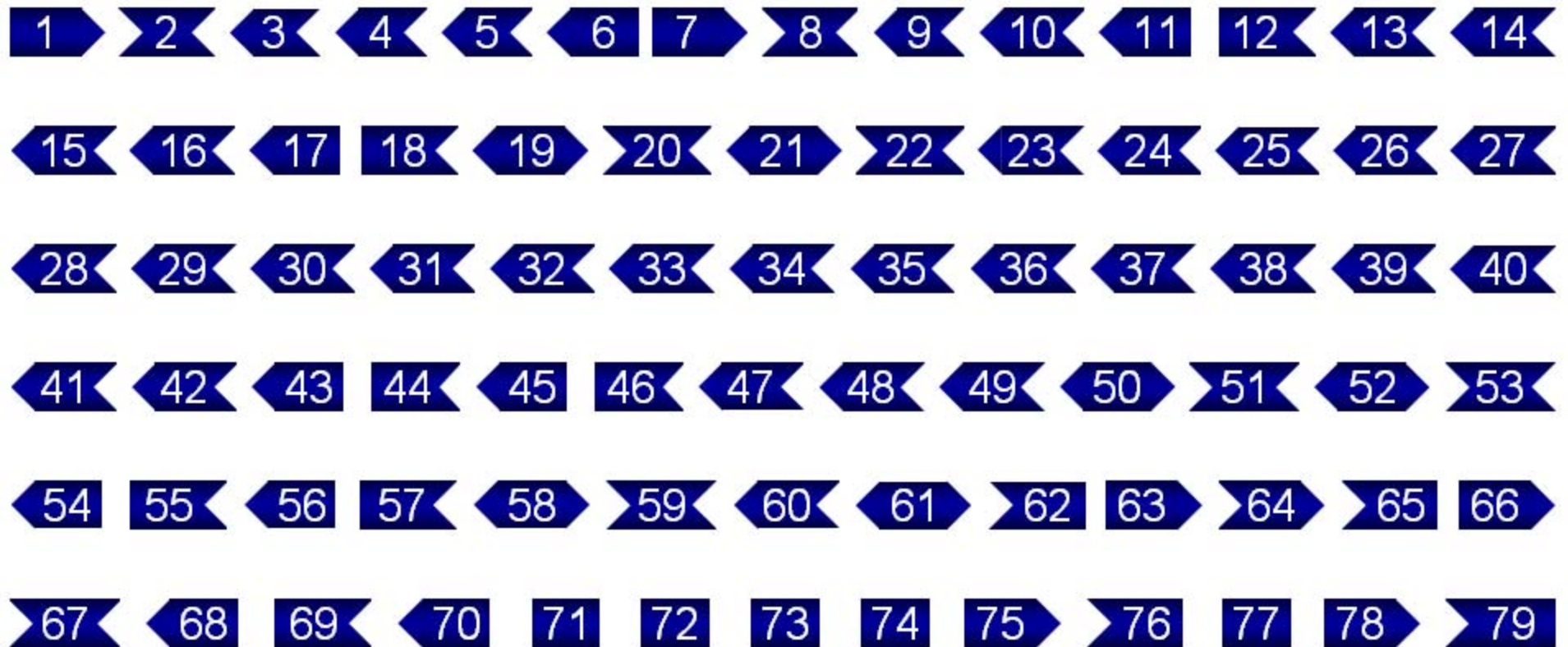
Normaal



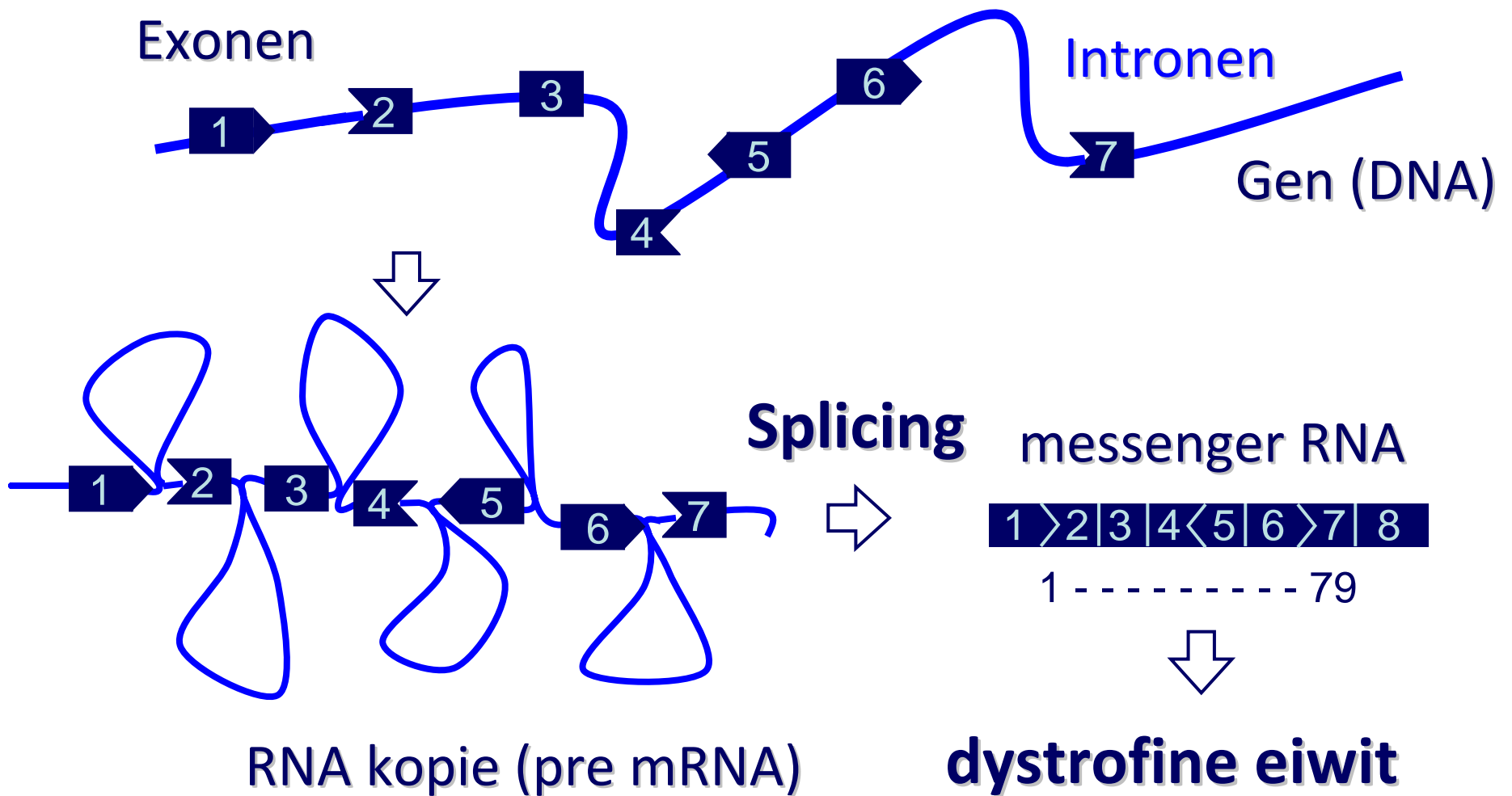
Duchenne



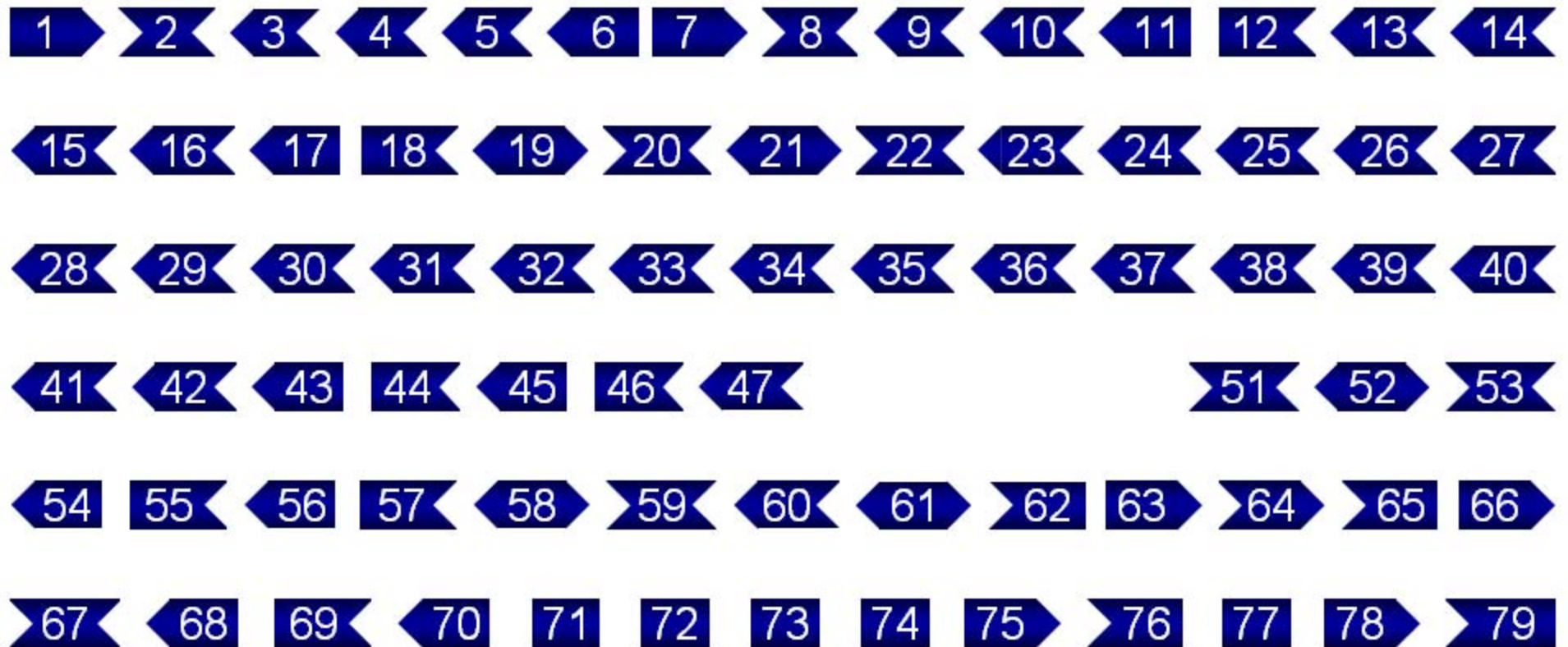
Dystrofine gen



Splicing



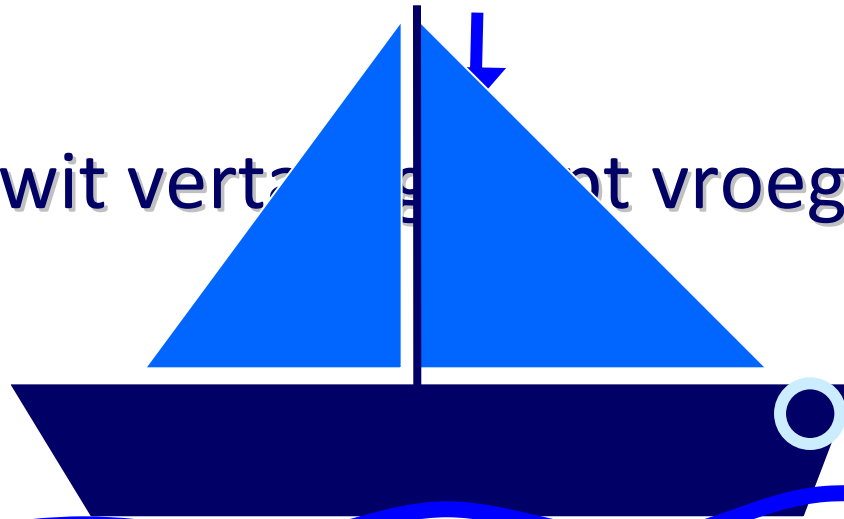
Duchenne: genetische code verstoord



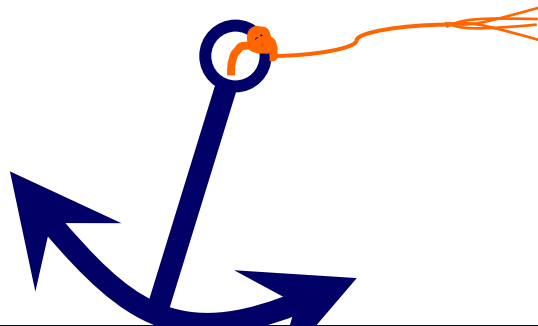
Duchenne: genetische code verstoord

Exon 46 < Exon 47 < ? > Exon 51 < Exon 52

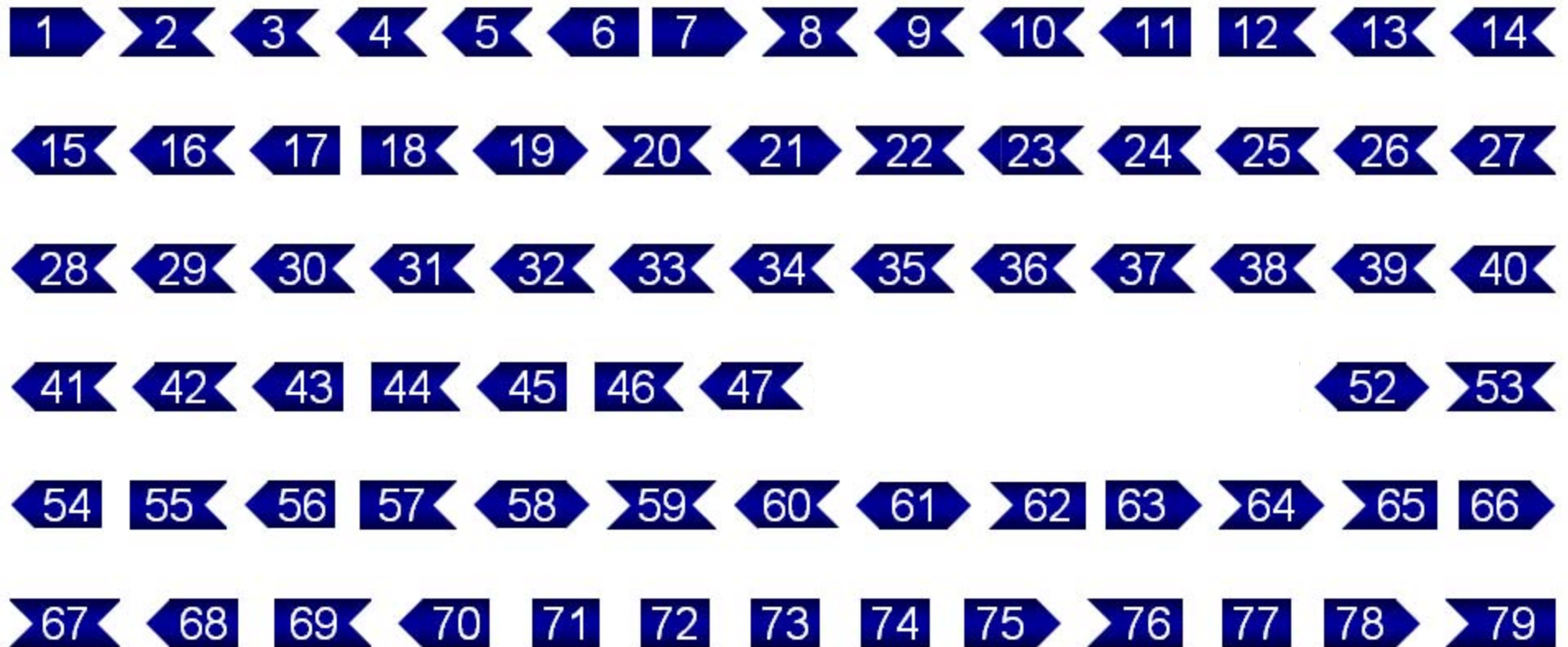
Eiwit vertaalt niet vroegtijdig



Dystrofine niet functioneel



Becker: genetische code behouden



Becker: genetische code behouden

Exon 46 < Exon 47 < Exon 52 > Exon 53 <



Eiwit vertaling gaat door

Dystrofine deels functioneel
Minder schade

Exon skippen: genetische code herstellen



Exon skippen

Marker -AON

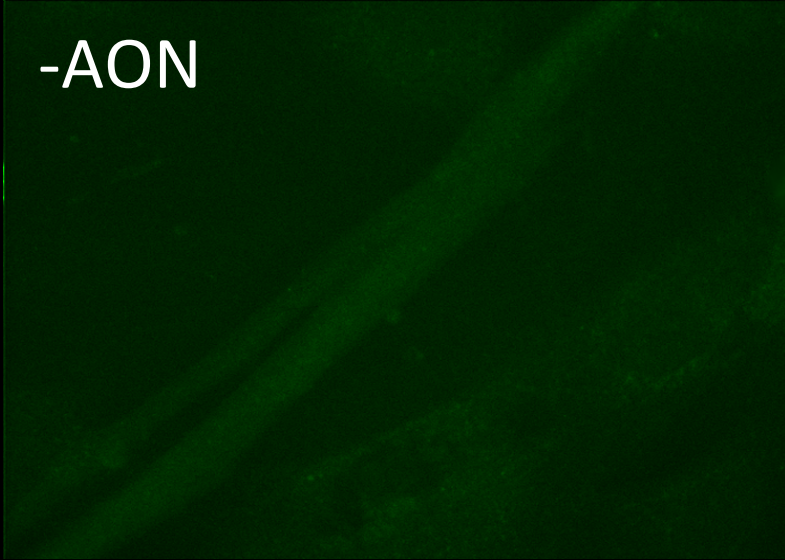


Exon 47 < Exon 51 < Exon 52

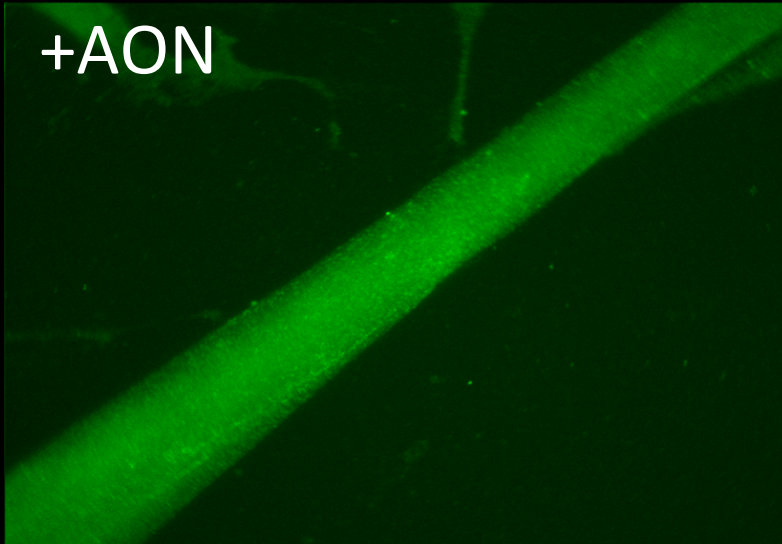
Exon 47 < Exon 52

Exon skippen

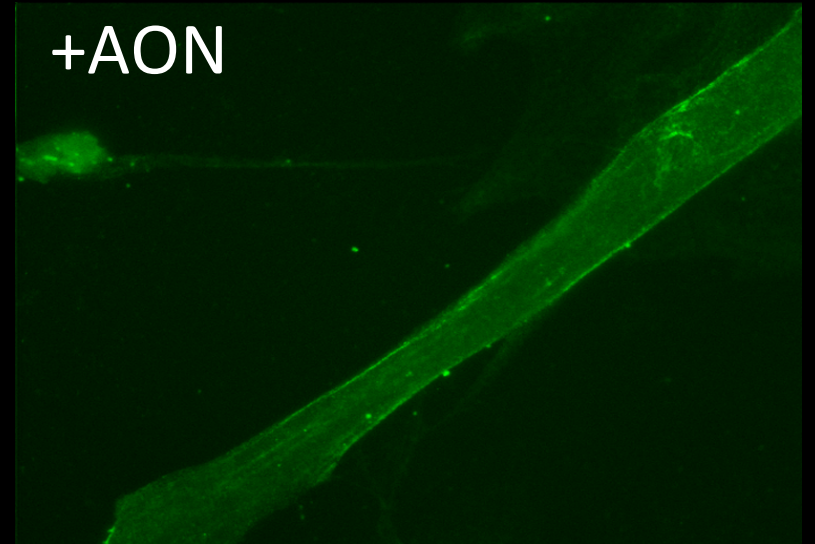
-AON



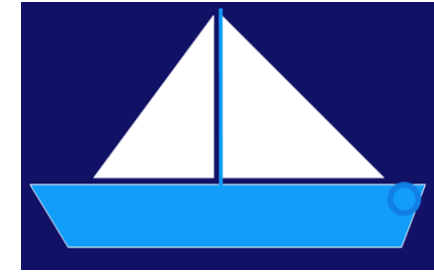
+AON



+AON



Toepasbaarheid



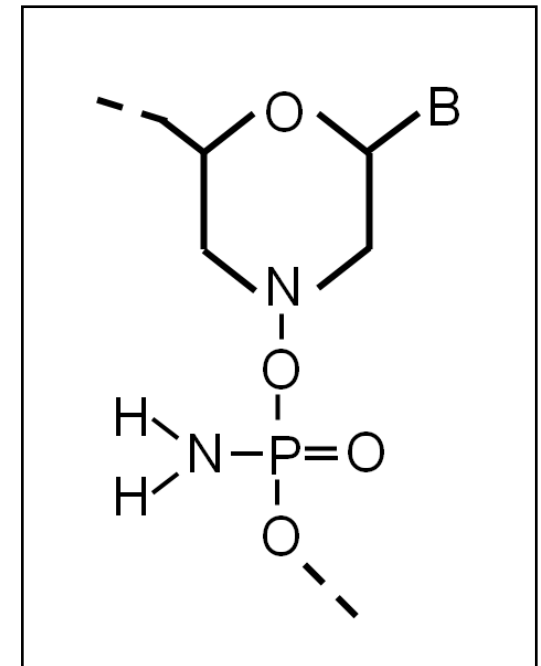
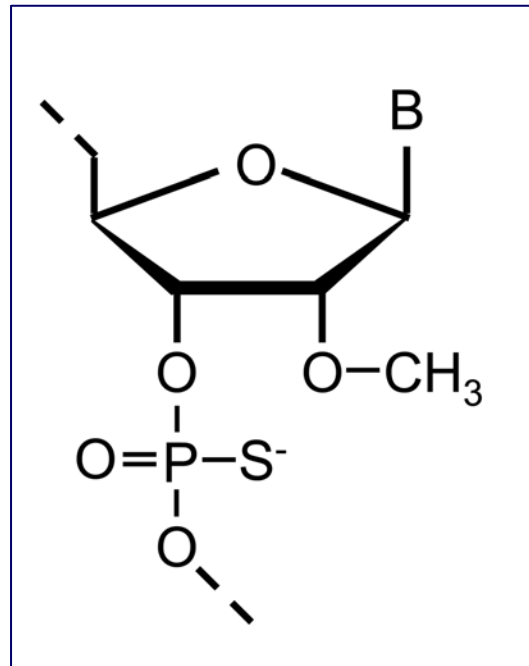
hotspot

Exon	All mutations	Deletions	Duplications	Small mutations
51	13.0%	19.1%	0.3%	3.0%
45	8.1%	11.8%	0.2%	2.2%
53	7.7%	11.4%	0.1%	1.5%
44	6.2%	8.85	0.4%	2.7%
46	4.3%	6.2%	0.2%	1.6%
52	4.1%	5.7%	0.5%	2.3%
50	4.0%	5.6%	0.2%	1.9%

Exon skip chemieën

- Twee chemieën ontwikkeld
- GSK/Prosensa: 2'-O-methyl phosphorothioaat
- AVI-Biopharma: phosphorodiamidate morpholino oligomers
- Exon 51

PROSENSA



Intramusculaire studies

- Exon skippen gevonden voor alle patienten
- Geen (ernstige) bijwerkingen!
- Dystrofine niveaus vergelijkbaar
17-35% vs 22-32%
- Aantal dystrofine positieve vezels vergelijkbaar
64-97% vs 44-79%
- Systemische behandeling nodig

Systemische studie (GSK/Prosensa)

GSK2402968 (0.5, 2, 4 & 6 mg/kg)

- Onderhuidse injecties (buikwand)
- Wekelijks voor 5 weken
- 3 patienten per groep
- Biopt 1 maand na laatste behandeling
- Geen ernstige bijwerkingen gevonden



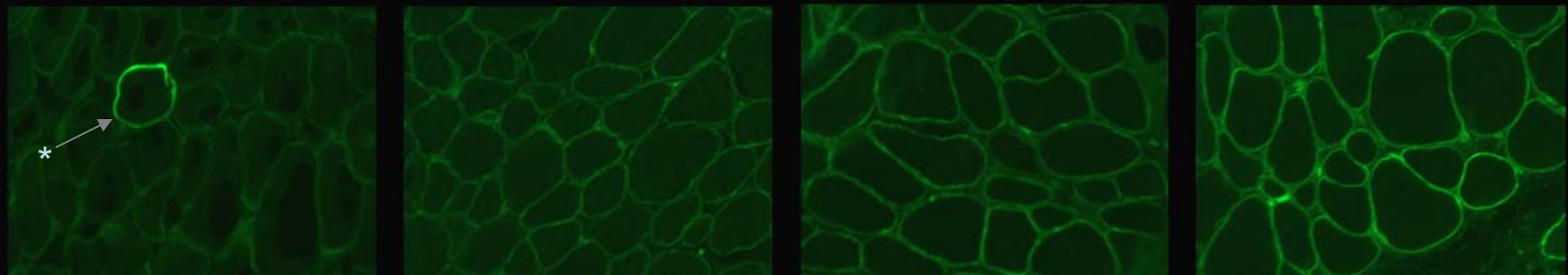
“Open label extensie studie”

- Alle patiënten behandeld met 6 mg/kg/week

Systemische studie (GSK/Prosensa)

Niet behandeld

Dosis



PROSENSA

Systemische studie (GSK/Prosensa)

- Dystrofine hersteld in 10/12 patiënten
- 60-100% spiervezels dystrofine positief
- Dystrofine niveaus tot 15.6% van controle
- Dosis afhankelijke toename van dystrofine

- Open label extensie studie begonnen
- Alle patiënten doen mee
- Behandeld voor >90 weken!

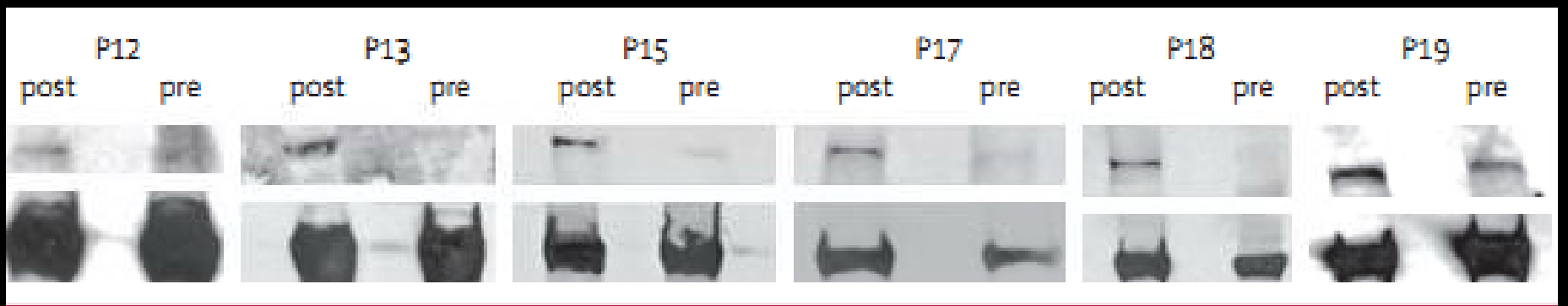
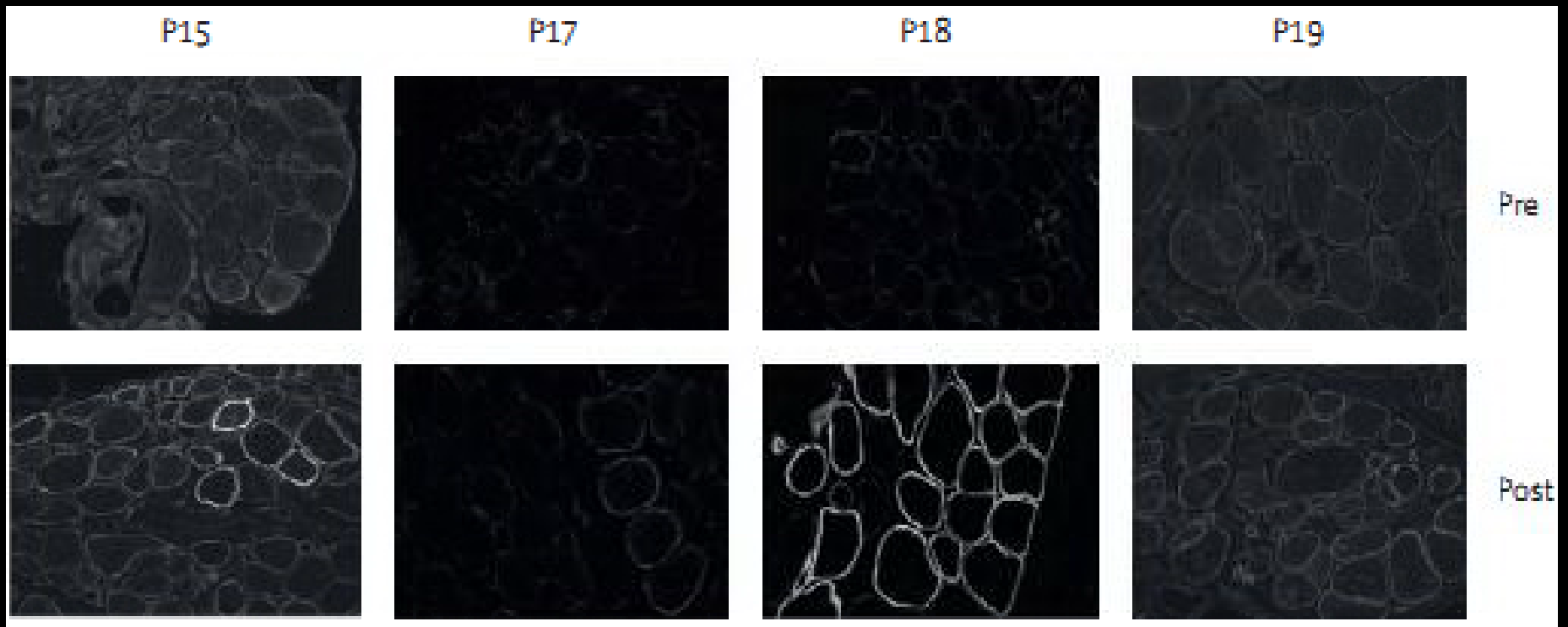


Systemische studie MDEX/AVI

AVI-4658 (0.5, 1, 2, 4, 10 & 20 mg/kg)

- Intraveneuze toediening
- Wekelijks voor 12 weken
- 2-4 patiënten per groep (totaal 19)
- Biopten
 - Voor behandeling
 - 2 weken na laatste toediening
- Geen ernstige bijwerkingen

Systemische studie MDEX/AVI



Systemische studie MDEX/AVI

- Dystrofine in 7/19 patiënten
 - Niveaus 11-22% van controle
- 3 “good responders” (2, 10 & 20 mg/kg groep)
 - Max 55% dystrofine positieve vezels
 - Max 18% dystrofine niveaus
- Geen effect op spierfunctie gevonden
- Dosering moet worden geoptimaliseerd

Geplande/gaande studies

- Exon 51 skippen
 - Niet ambulante patiënten (GSK/Prosensa)
 - Wekelijks vs 2 wekelijks (GSK/Prosensa)
 - Fase 3 studie (GSK/Prosensa)
 - AVI-4658 optimalisatie (AVI/NWH USA)
- Exon 44 skippen fase I/II (Prosensa)
- Plannen voor exon 45 and 53 studies (Prosensa)
- Optimalisatie andere exonen gaande (52 & 55)
- Discussie met regulerende autoriteiten

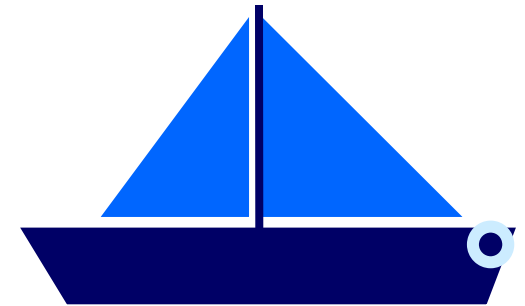
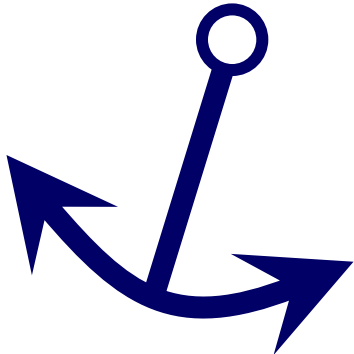
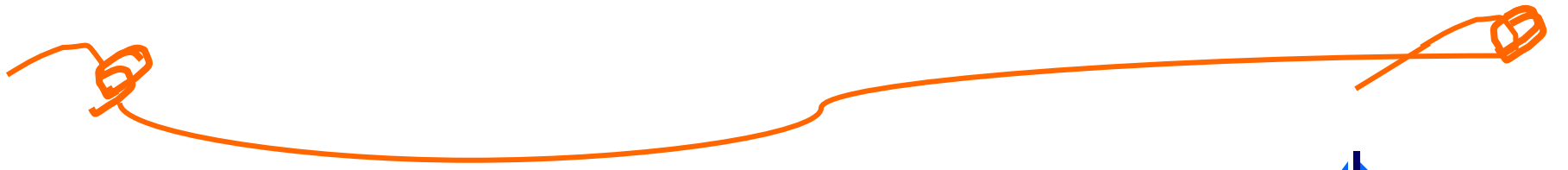
PTC124/ataluren en gentamicine



1



79



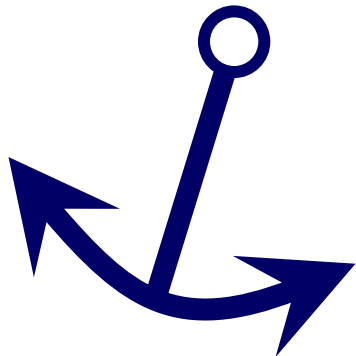
PTC124/ataluren en gentamicine



1



79



PTC124/ataluren en gentamicine



PTC



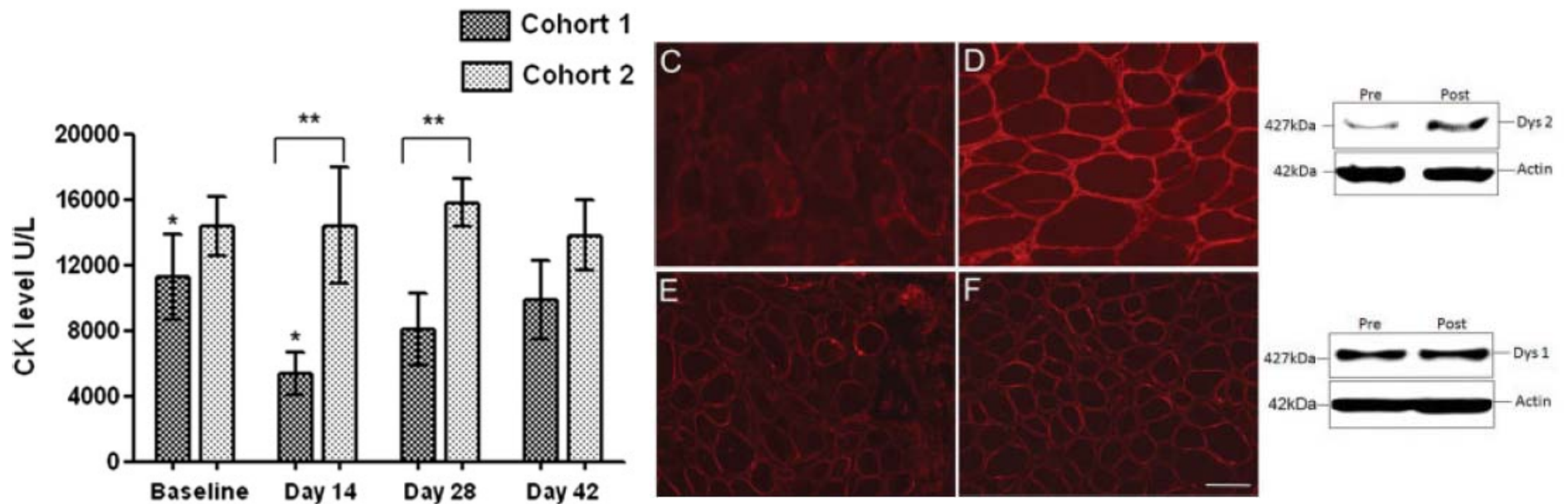
1

79

Cel negeert het foutieve stop signaal
Volledige eiwit wordt gemaakt

Gentamicine

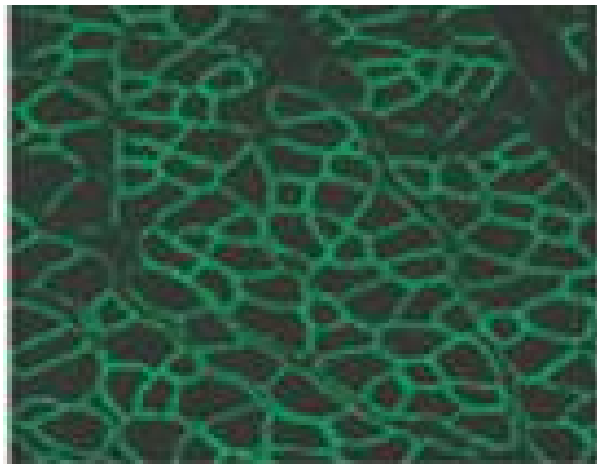
- Getest in celkweek, mdx muis en patienten
- CK lager (14 dagen behandeling)
- Meer dystrofine na 6 maanden voor sommige
- Probleem: bijwerkingen



PTC124/Ataluren

- Goed te verdragen
- Getest in celkweek en mdx muis
- Dystrofine herstel
- Verbetering spierkracht, CK lager

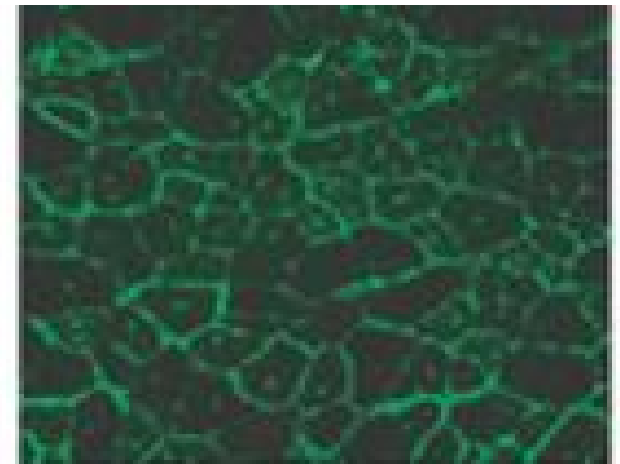
Controle



Mdx



Mdx + PTC124

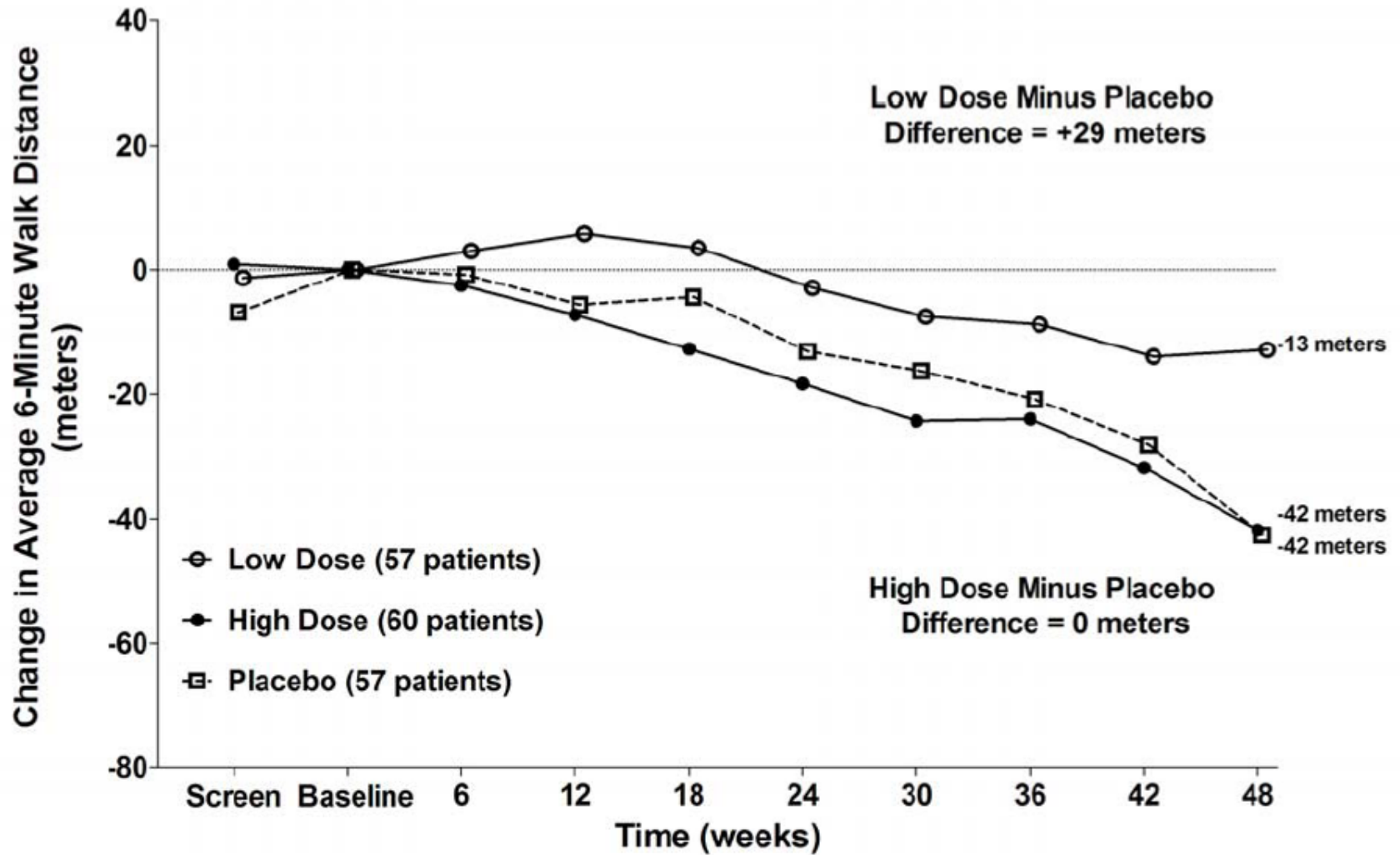


PTC124/Ataluren

- Getest in gezonde controle: veilig
- Getest in 28 patiënten (dosis optimaliseren)
 - Veilig
 - 11% meer dystrofine voor 65% patiënten
- Getest in 174 patienten (48 weken)
 - Placebo, hoge en lage dosis
 - Veilig
 - 6 minuten loop test: geen significant verschil
 - Dystrofine niveaus?

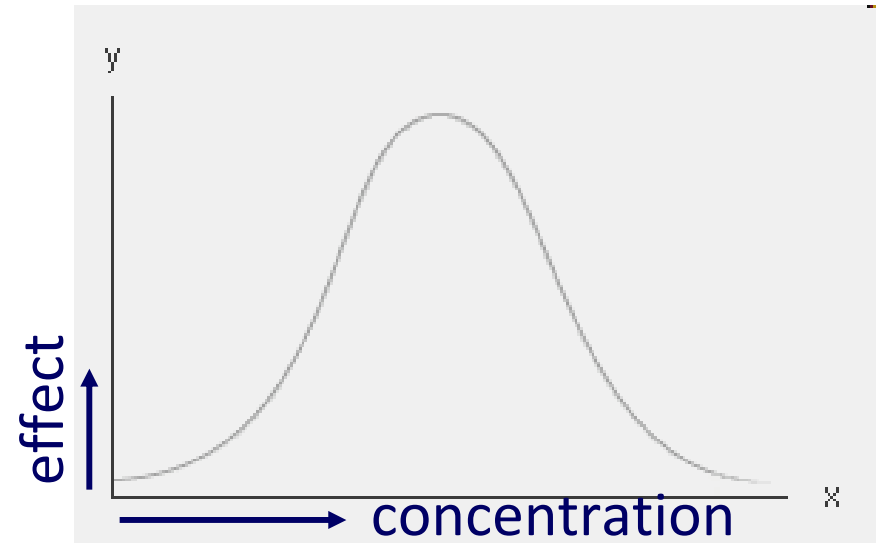
PTC124/Ataluren

Figure 1: Difference between the treatment groups in the average 6MWD through 48 weeks of treatment



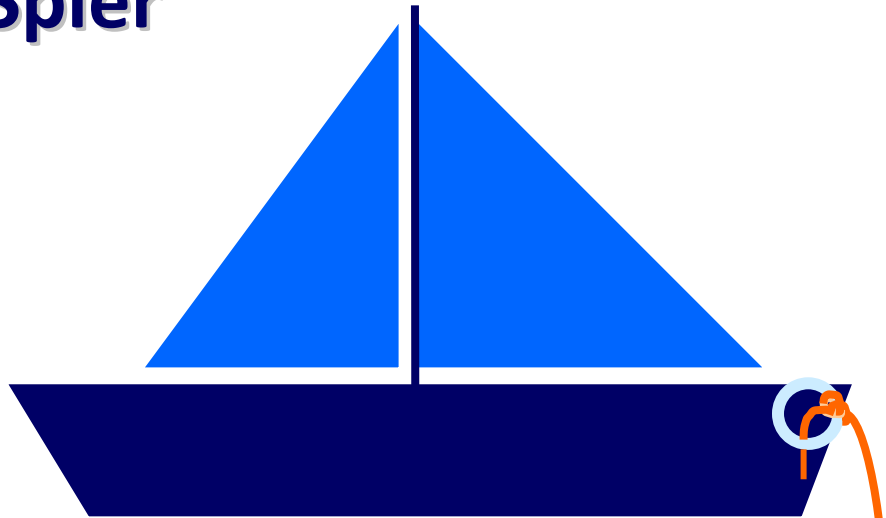
PTC124/Ataluren toekomst

- Dosering niet optimaal
 - Bell shaped curve
- Meer onderzoek nodig
 - Dosering optimaliseren
 - Deel reageert wel?
- Nieuwe studies gepland

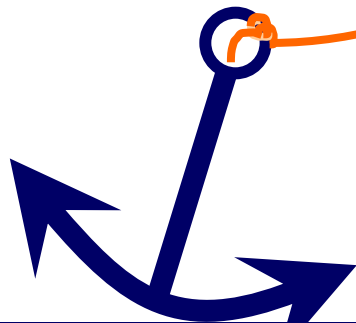


Utrofine opregulatie

Spier

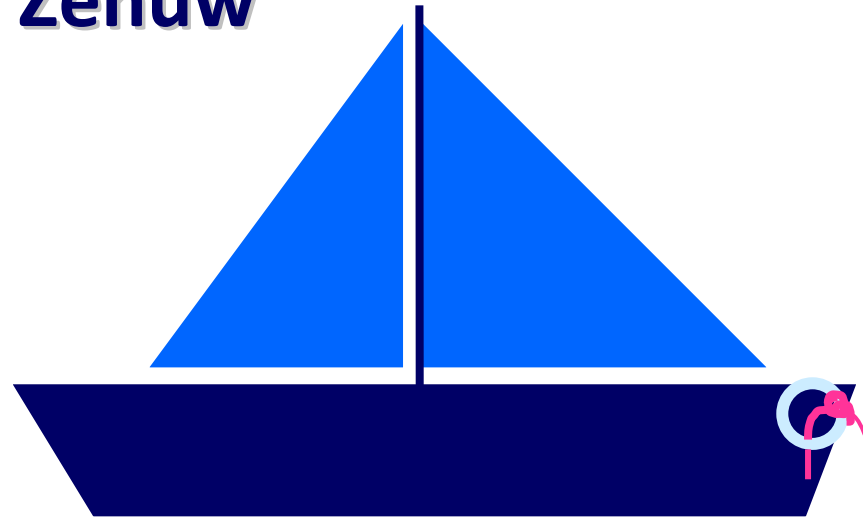


Dystrofine

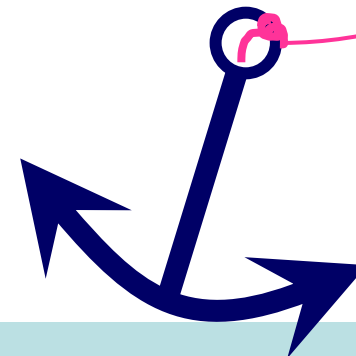


Annemieke Aartsma-Rus

Zenuw

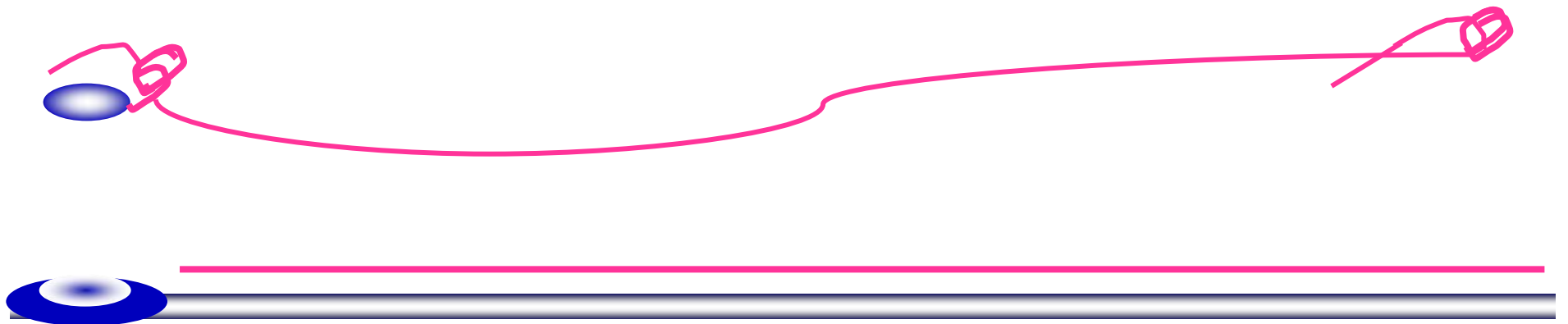


Utrofine



Utrofine opregulatie

- Utrorfine lijkt op dystrofine
- Utrorfine kan functie dystrofine over nemen
- Geproduceerd in zenuwen, nauwelijks in spier
- Manier vinden om utrofine aan te zetten in spier



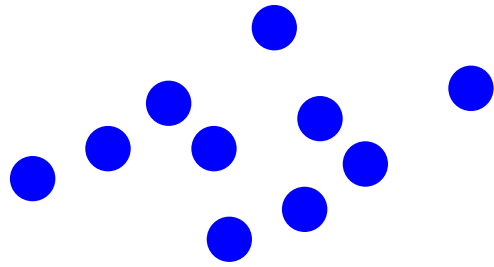
Utrofine gen volume knop

Utrofine opregulatie

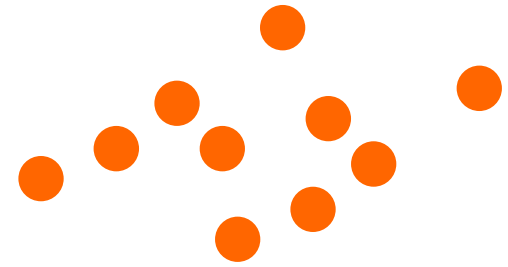
- High throughput screening in cel modellen (duizenden stoffen)
- Kandidaat stoffen verder testen in gekweekte cellen en muis modellen
- BMN195 verhoogt utrofine in cellen en muis
- Getest in gezonde vrijwilligers (Biomarin, VS)
- Bloedspiegels veel te laag voor effect
- Hogere doseringen of vaker doseren geen effect
- Proberen opname te verbeteren (Summit)

Myostatine remmen

Spier groeifactoren



Spiergroei remmers



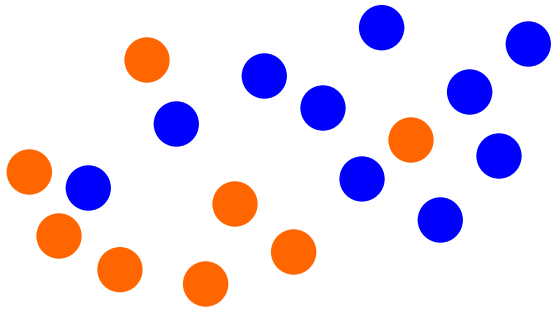
Myostatine remmen

- Myostatine remt spiergroei
- Dieren/mensen zonder myostatine: veel spier!
- Rem myostatine → grotere spieren
- Compensatie voor verlies spieren bij patiënten?

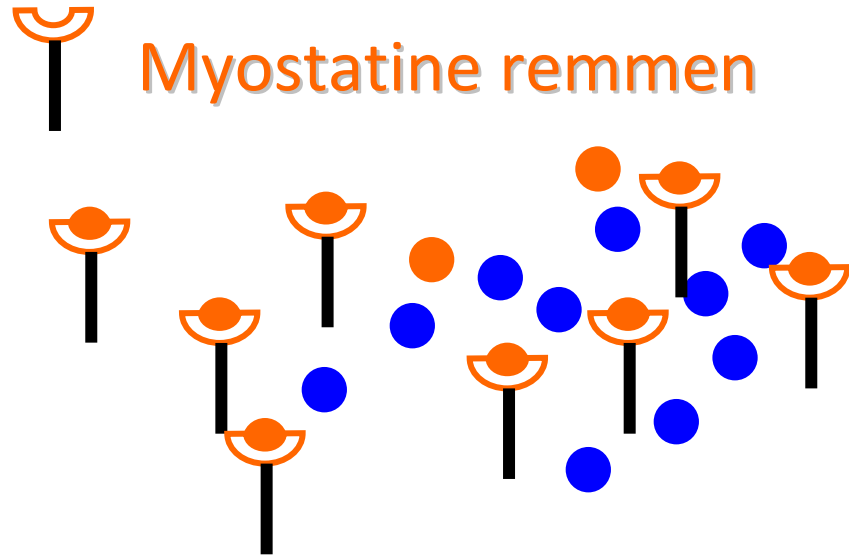


Myostatine remmen

Normaal



Myostatine remmen



Myostatine remmen

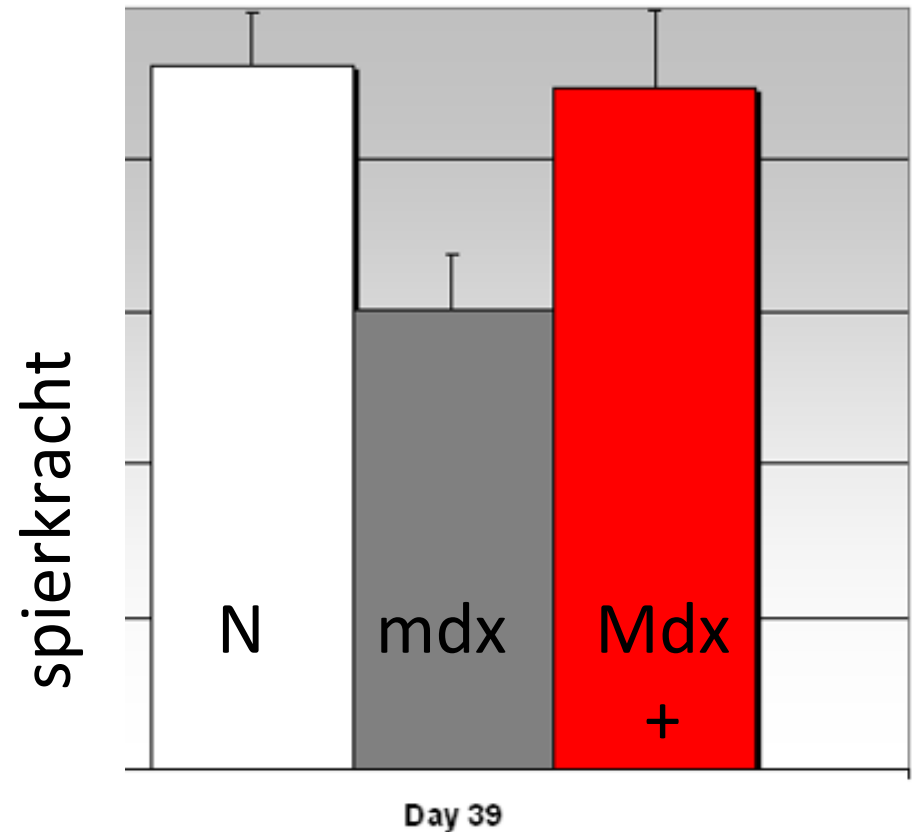
Acceloron goed myostatine antilichaam gemaakt

Getest in gezonde muis

- Meer spier, minder vet

Mdx muis

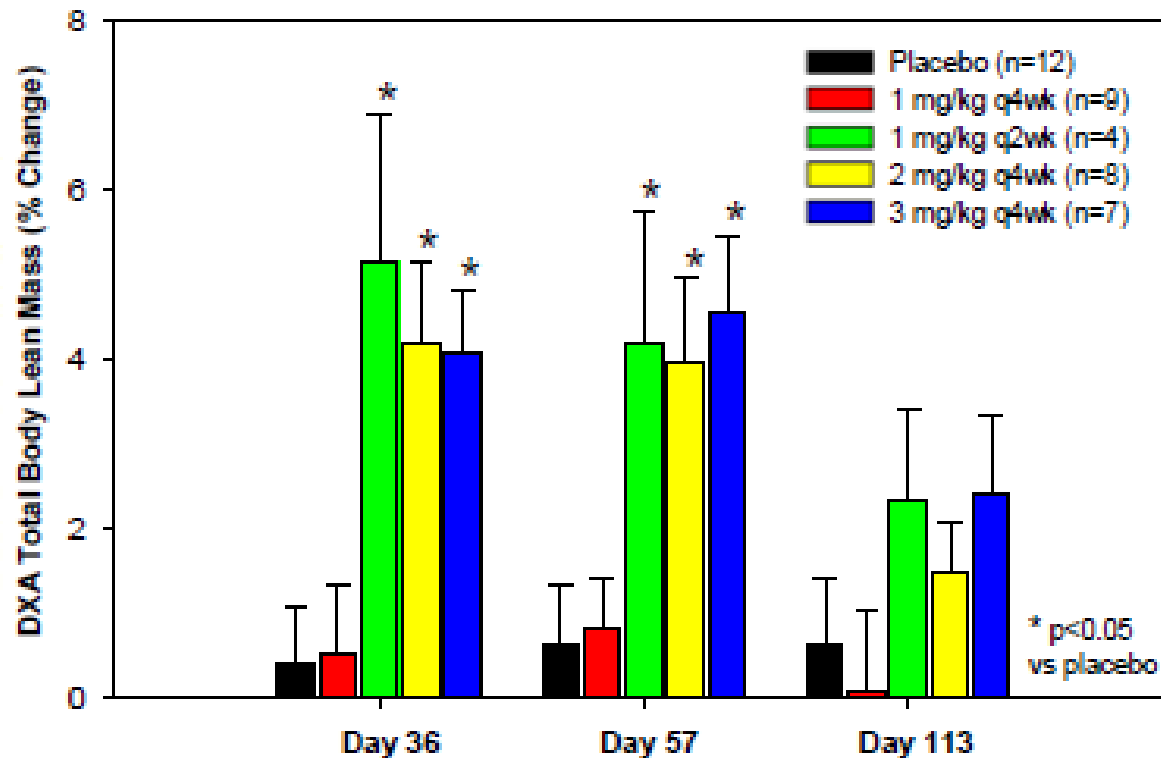
- Meer spier, minder vet
- Sterkere spieren



Myostatine remmen

Getest in gezonde vrijwilligers

- Goed verdragen, ook herhaaldelijke toediening
- Meer spiermassa, minder vet massa



Myostatine remmen

Klinische studie patiënten (Canada)

- 12 weken behandeling, 3 doseringen
- Placebo groep (1:3 placebo)
- Testen veiligheid
- Vinden optimale dosering

Klinische studie stop gezet

- Deel patiënten neus en tandvlees bloedingen
- Shire/Acceleron onderzoeken oorzaak

Samenvatting

- Problemen Duchenne veroorzaakt door gebrek aan dystrofine
- Behandelingen grijpen in op een of meerdere problemen
- Mutatie specifieke behandeling: DNA diagnose belangrijk!
- Veel bekend over Duchenne → voornamelijk door onderzoek gesponsord door ouderorganisaties
- (Nog) geen therapie beschikbaar, door betere zorg levensverwachting ~16 jaar → ~30 jaar