

Pokroky v léčbě hereditárních svalových chorob

MUDr. Stanislav Vohánka, CSc., MBA

Neurologická klinika LF MU a FN Brno

Pokroky v léčbě svalových dystrofií lze rozdělit na dvě základní skupiny. Aktuální symptomatickou péči a pokroky v genové a patogene- neticky orientované terapii. Symptomatická péče, přestože neléčí podstatu nemoci, je velmi významná a zvyšuje kvalitu a délku života nemocných. Jde o prodlužování schopnosti chůze pomocí ortéz, podporu ventilace a kardiologickou péči. Srdečnímu postižení je třeba věnovat odpovídající pozornost, u některých svalových chorob jde o limitující postižení (Emeryho Dreifussova svalová dystrofie, dys- trofinopatie). Za symptomatickou farmakoterapii lze také považovat podávání kortikosteroidů u chlapců s dystrofinopatií.

Etiopatogeneticky orientovaná léčba se u pacientů s dystrofinopatií dělí na genovou terapii, buněčnou terapii a farmakoterapii. Experi- menty v oblasti genové terapie se soustředí na přenos mikrodystrofinu do genomu pomocí virového nosiče. Hlavní překážkou je zatím autoimunitní reakce organismu. Se stejnými potížemi se potýká i buněčná terapie s lokální aplikací myoblastů, mezangioblastů a CD133+ buněk. Farmakoterapie je zaměřena na léky podporující upregulaci exprese utrofinu, který může částečně nahradit funkci dystrofinu: bylo zahájeno testování látky BMN195 na zdravých dobrovolnících. Dalším perspektivním směrem jsou inhibitory myostatinu, tedy látky zasahující do funkce genu GDF-8, jde o monoklonální protilátky ACE-031 a MYO-029 a látku ACVR2B. Další velkou skupinou jsou tzv. mutačně specifické přístupy. Látka PTC 124 umožňuje u nemocných s dystrofinopatií Duchennerova typu překlenutí bodové mutace se stop kodonem a tedy tvorbu sice mutovaného, ale alespoň částečně funkčního dystrofinu. Nadějně experimentální výsledky se bo- hužel neukázaly v klinické praxi účinné a klinická studie ve fázi IIb byla zastavena (Ataluren®). Největší pokrok dosáhla zatím strategie, která se nazývá „exon skipping“, tedy přeskočení deletovaných exonů u nemocných s Duchenneovou svalovou dystofií, což umožňují tzv. antisense oligonukleotidy (AON), tedy speciální malé části RNA. Výsledkem je opět produkce alespoň částečně funkčního dystrofi- nu. Na každý hot spot je třeba připravit jiný AON. Nejdále je v klinickém výzkumu lék firmy Prosensa, což je AON sloužící k přemostění exonu 51. V roce 2010 byla s tímto lékem zahájena multicentrická mezinárodní klinická studie. U myotonické dystrofie se potenciální léčebné strategie soustředí na klíčový pochod, kterým je hromadění expandované RNA a její toxické účinky na intracelulární pochody.

Klíčová slova: dystrofin, facioskapulohumerální svalová dystrofie, genová terapie, myotonická dystrofie, Pompeho nemoc, svalová dystrofie.

Therapeutic advances in hereditary muscular disorders

Treatment progress in hereditary neuromuscular disorders could be divided in two groups. Current multidisciplinary care and progress in gene and pathogenic oriented therapy. Multidisciplinary symptomatic care does not treat the principle of the disease, but it is very significant and improves the patient's quality of life. Orthoses which can prolong the ambulatory stages, management of cardiac and pulmonary functions are considerable topics. Cardiac involvement is in some muscular dystrophies the prominent sign which can re- strict the life length expectancy (Emery- Dreifuss muscular dystrophy, dystrophinopathy). To the symptomatic care belongs also the administration of corticosteroids in boys with Duchenne muscular dystrophy.

Causative treatment in patients with Duchenne muscular dystrophy has many ways: gene therapy, cell therapy, and drug therapy. Gene thera- py is focused to the transfer of the micro- dystrophin using viral vectors. The main problem of this way is the immune response of the human muscle tissue. The same problem is generated by local transfer of the myoblasts, mesangioblasts, and CD133+ cells. Drug therapy is dealing with upregulation of utrophin which can partially replace the dystrophin; BMN-195 compound was tested in healthy volunteers. Different possible therapeutic way are the inhibitors of myostatin: compounds which can influence the gene GDF-8: monoclonal antibodies ACE-031 and MYO-029, and compound ACVR2B. Mutation-specific approaches are the methods based on the correction of the genetic code, which allows the production of a partially functional dystrophin. Promising experimental results with PTC124 showed no functional improvement in human volunteers. The most promising results was reached with an „exon skipping“ therapy, which can restore the genetic code from Duchenne pati- ents. A partially functional, Becker-like dystrophin protein can be produced instead of a non functional Duchenne protein. This is achieved by AONs (antisense oligonucleotides). AONs are small pieces of modified RNA. Different AONs are needed for each hot spot. Drug named PRO051 (AON for skipping of deleted exon 51) is currently tested and during 2010 multicentric international clinical study Phase III has been started. In patients with myotonic dystrophy type I the therapeutic strategies are focused on expanded RNA and its toxicity on intracellular processes.

Key words: dystrophin, facioscapulohumeral dystrophy, gene therapy, myotonic dystrophy, Pompe disease, muscular dystrophy.

Neurol. praxi 2011; 12(3): 191–195

Seznam zkratk

ALS – myotrofická laterální skleróza

BiPAP – Bi-level positive airway pressure

CPAP – continuous positive airway pressure

BMD – Beckerova muskulární dystrofie

DMD – Duchenneova muskulární dystrofie

DNA – deoxyribonukleová kyselina

FSHMD – facioskapulohumerální svalová dys- trofie

LGMD – pletencové svalové dystrofie

RI – respirační insuficience

RNA – ribonukleová kyselina

UPV – umělá plicní ventilace

Hereditární svalové choroby nepatří me- zi choroby časté, naopak jde o typická vzácná onemocnění, pro která používá angličtina ozna- čení „orphan“ – sirotek. Jde o postižení s pre-

valencí menší než 1 případ na 2000 obyvatel. Ojedinelý výskyt těchto chorob klade velké nároky na vzdělání lékařů, činí získávání relevantních informací o těchto nemocech krajně obtížným a vede k zanedbávání péče.

Nestor klinické myologie prof. Victor Dubowitz si v roce 2008 ve své úvodní přednášce na Neuromuskulárním kongresu v Brně posteskl, že to každý rok vypadá, že terapie hereditárních svalových dystrofií je již za rohem, ale tento roh je každý rok vždy trochu dál... Zkusme si tedy shrnout, jaká je současná situace na tomto poli, co můžeme pro pacienty udělat již nyní a na čem se usilovně pracuje.

Léčbu svalových dystrofií lze rozdělit na dvě základní skupiny. Aktuální symptomatickou péči a pokroky v genové a patogeneticky orientované terapii. Směry a cesty se ale prolínají a je někdy obtížné a diskutabilní zařadit tu kterou léčebnou metodu do příslušné kategorie.

1. Symptomatická péče

Symptomatická péče, přestože neléčí podstatu nemoci, je velmi významná a zvyšuje kvalitu a délku života nemocných. Zda došlo, přes absenci patogeneticky orientované léčby, k nějakému zřetelnému pokroku můžeme demonstrovat na faktu, že v 60. letech byl medián přežití u chlapců s Duchenneovou formou dystrofinopatie 16 let a nyní je 25 let.

Jde o prodlužování schopnosti chůze pomocí ortézy, podporu ventilace a kardiologickou péči.

Doporučení ohledně péče o nemocné s DMD shrnuje materiál publikovaný v roce 2009 v Lancet Neurology (Bushby et al., 2010). Zdůrazňuje kromě správné diagnózy i kvantifikované testování svalových funkcí (chůze na čas, testování svalové síly), které má být v pravidelných intervalech opakováno (doporučeno 6 měsíců). Za nezbytný je považován multidisciplinární přístup: rehabilitační a ortopedická péče, péče kardiologa, pneumologa, gastroenterologa a nutričního poradce (kontrola hmotnosti). Toto sledování má být pravidelné, jde tedy o to, čemu v našich poměrech říkáme dispenzární péče.

1.1 Podpora chůze

Ortézy prodlužují schopnost chůze až o 3 roky. Používají se především tzv. KAFO (z angličtiny: knee-ankle-foot-orthoses), které stabilizují dva klouby (kolenní a hlezenní). Jejich efekt na udržení mobility je u chlapců s DMD srovnatelný s aplikací kortikoidů (Dubowitz, 2010). Neméně důležité je používání hlezenních a zápěstních ortéz k prevenci deformit a usnadnění pohybu.

1.2 Respirační selhání

Měření respiračních funkcí a anamnéza respiračních potíží je součástí každého klinického vyšetření nemocného se svalovou dystofií. Respirační slabost většinou odpovídá celkovému stupni svalové slabosti, zvl. horních končetin a pletence ramenního. U některých nemocí je však typické i predilekční postižení bránice vedoucí k časné respirační insuficienci, která nekořeluje s celkovou svalovou slabostí. Toto je charakteristické např. pro adultní formu Pompeho nemoci (Hagemans et al., 2005). Dýchací funkce významně zhoršuje hrudní kyfaskolióza, která bývá u některých svalových chorob častou součástí. Základní hodnotou, kterou měříme, je tzv. usilovná vitální kapacita (FVC = forced vital capacity). Měříme vždy vsedě a vleže; pokles v horizontální poloze ukazuje na selektivní postižení bránice. (Subjektivně udávaná dyspnoe vleže je důležitou časnou známkou RI.) Naměřené hodnoty se srovnávají s tabelovanými daty pro věk, výšku a pohlaví. Udáváme, jak absolutní hodnoty v litrech, tak i procentuální poměr aktuálně naměřených hodnot vůči predikovaným. Užitečná je i polysomnografie s noční oxymetrií, které odhalí významné noční desaturace a potvrdí klinické podezření na incipientní RI (tabulka 1). Další časnou známkou dechového selhávání je námahová dušnost, ta se však často u hybně omezených pacientů nemůže manifestovat! Pokles vitální kapacity na 50 % tabelované hodnoty se již většinou klinicky projevuje, hodnota kolem 25–30 % ukazuje na riziko respiračního selhání a 20 % FVC je kritickou hodnotou pro nutnost ventilační podpory. Hladiny krevních plynů nemají dobrou prediktivní hodnotu, při pomalém zhoršování svalové síly jsou tyto hodnoty dlouho kompenzovány. Hyperkapnie ($p\text{CO}_2 > 6.0 \text{ kPa}$) a hypoxie ($p\text{O}_2 < 8.0 \text{ kPa}$) však již ukazují na nutnou podporu.

Tabulka 1. Časné známky respirační insuficience

námahová dušnost
dyspnoe vleže
porušený spánek (časté noční probouzení a denní spavost)
ranní cefalea
tachykardie

Podporu dýchání lze rozdělit na dva základní typy: neinvazivní a invazivní. Neinvazivní znamená používání masky s trvalým (CPAP) nebo střídavým (BiPAP) přetlakem. Invazivní ventilační podporou je myšlena tracheotomie a používání mobilní domácí umělé plicní ventilace. Neinvazivní podpora maskou v noci je

tolerována asi 80 % pacientů a vede i ke zlepšení dechových parametrů během dne (zotavení unavených dýchacích svalů, zabránění adaptace CO_2 receptorů, zmírnění sekundárních orgánových změn – mikroatelektázy apod.). Tolerance podpory dýchání maskou přes den je individuální. Platí obecné pravidlo, že potřebuje-li pacient masku 16–20 hodin denně, je na místě invazivní ventilace. Kontraindikace podpory maskou je kardiální dekompenzace, zvracení, těžké poruchy polykání a obecně špatná spolupráce. Rozsah ventilační podpory lze orientačně odhadnout podle naměřené FVC (tabulka 2).

Invazivní umělá plicní ventilace by měla být vždy uvědoměným rozhodnutím pacienta, protože se zpravidla jedná o finální fázi muskulárního selhání. Pro úspěšné použití domácí UPV je rozhodující spolupráce rodiny, protože tato léčba vyžaduje trvalé nasazení motivovaných pečovatелů. Odhaduje se na 3,5 pracovního úvazku na pacienta, přičemž minimálně 9 hodin denně by měla zajistit rodina.

Tabulka 2. Rozsah ventilační podpory podle naměřené vitální kapacity

FVC (ml)	rozsah ventilační podpory
< 1000	přechodná podpora
500–800	noční podpora
200–500	noční podpora a přechodně přes den
< 200	trvalá podpora

1.3 Kardiální problémy

Srdečnímu postižení je třeba věnovat odpovídající pozornost, u některých svalových chorob jde o limitující postižení (Emeryho Dreifussova svalová dystrofie). Pacienti se svalovou dystofií, která postihuje srdce, by měli být v pravidelné dispenzární péči kardiologa.

X vázaná forma Emeryho-Dreifussovy svalové dystrofie

U této nemoci je včasná diagnóza klíčová, protože kardiální postižení výrazně dominuje nad porušenou lokomocí (Vohánka et al., 2001). Podle některých údajů postihuje náhlá kardiální smrt až 40 % osob s deficitem emerinu. Patognomická je síňová paralýza, dále bývá onemocnění síňového uzlu se sinusovou nebo junkční bradykardií, A-V blokády či fibrilace nebo flutter síní. Řešením je včasná implantace kardiostimulátoru nebo defibrilátoru. Kardiomyopatie u této choroby je většinou dilatačního typu a pacienti jsou kandidáty srdeční transplantace (Bione et al., 1994; Bensaid et al., 1995). Stejně údaje o riziku náhlé srdeční smrti (kolem 40 %) jsou udávány u nemocných

s autozomální formou EDMD na podkladě deficitu laminu A/C.

Dystrofinopatie

Jak u Duchenneovy, tak u Beckerovy formy je přítomna kardiomyopatie, převážně dilatační (90%). Arytmie jsou spíše zřídka (6–13%). Kardiomyopatie je prakticky významnějším problémem u nemocných s BMD, protože vzhledem k větší mobilitě a delšímu dožití jsou nároky na myokard větší. U nemocných s DMD by měly být, při prokázané dysfunkci levé komory, podávány léky ze skupiny ACE inhibitorů (Bushby et al., 2010).

Přenašečky dystrofinopatie mají až v 90 % kardiální postižení s dominující hypertrofickou kardiomyopatií, arytmie jsou stejně jako u postižených osob mužského pohlaví spíše vzácné (6%). Všechny přenašečky dystrofinopatie by měly být také v kardiologické dispenzarizaci.

Postižení srdce je významné i u některých dalších svalových dystrofií, jako je myotonická dystrofie I. a II. typu (A-V blokády, komorové dysrytmie, zřídka dilatační kardiomyopatie), pletencové svalové dystrofie LGMD 2C-F (sarkoglykanopatie) a LGMD 2A (calpainopatie) či Betlehem myopatie (Vytopil et al., 2001).

2. Etiopatogeneticky orientovaná terapie

Můžeme ji rozdělit opět na dvě skupiny: substituci chybějící bílkoviny (nebo jiné látky) a genovou terapii nebo zásah do molekulární buněčné patologie.

2.1 Substituční léčba

Nejde o skutečnou kauzální terapii. Jde o analogii hormonální substituce např. u diabetu nebo hypotyreózy. Na rozdíl od genové terapie, která skrývá řadu úskalí, však jde přece jen o teoreticky i technicky jednodušší procesy, které již přinesly první výsledky do praxe.

Sem patří léčba Pompeho nemoci (glykogenóza II. typu). Jde o autozomálně recesivní metabolickou chorobu, kdy vlivem mutace dochází ke snížení tvorby nebo nulové produkci lysozomální kyselé α -1,4-glukosidázy (kyselá maltázy), důsledkem je stárání glykogenu v tkáních, zejména v kosterní a srdeční svalovině.

Terapie spočívá v podávání i. v. infuze rekombinantního enzymu, který je prekurzorem obsahujícím manóza-6-fosfátové skupiny, to umožňuje vazbu enzymu na receptor na povrchu buněk. Transport komplexu enzym-receptor se poté děje pomocí endocytózy.

První klinické studie začaly v roce 1999 a registrace komerčního preparátu pro západní a střední Evropu proběhla v roce 2007.

U historických kontrol přežilo 18 měsíců života jen jedno dítě z 61, v případě léčby rekombinantní GAA přežilo uvedený interval 15 z 18 dětí bez nutnosti umělé plicní ventilace (Amalfitano et al., 2001; Kishnani et al., 2007; Kishnani et al., 2009; Nicolino et al., 2009).

U adultní formy nejsou výsledky tak markantní, protože částečně zachovaná produkce enzymu vede (kromě pozdějšího začátku) jen k pomalé progresi onemocnění. Léčení nemocných se tedy v prvních letech liší od přirozeného průběhu choroby jen velmi málo (Van der Ploeg et al., 2010).

2.2 Genová terapie nebo zásah do molekulární buněčné patologie

Jde o velmi komplikovanou cestu, na které věda musí překonávat řadu překážek a celá řada jich ještě na překonání čeká. Nejvýznamnějším problémem je nutnost podrobné znalosti komplikovaného patofyziologického řetězce, který se navíc většinou liší nemoc od nemoci. Součástí výzkumu jsou zvířecí modely, bohužel se opakovaně ukázalo, že to co funguje u některých savců u člověka selhává. Některé léčebné strategie jsou přísně specifické pro určité choroby, protože jde o unikátní patofyziologii, jiné jsou zaměřeny obecněji (stimulace svalového růstu) a pokud by se ukázaly jako perspektivní, tak by byly použitelné u více nemocí. Některé mutačně specifické postupy by naopak byly využitelné i u jiných dědičných chorob (např. překonání stejného typu bodové mutace, která ruší čtecí rámec: dystrofinopatie, cystická fibróza, hemofilie).

2.2.1 Dystrofinopatie

Této svalové dystrofii je ve vědeckém světě věnována největší pozornost a největší úsilí. Jde o druhou nejčastější svalovou dystrofii s daleko nejzávažnější prognózou (Duchenneova svalová dystrofie). Terapeutické směry můžeme rozdělit na 3 skupiny: genovou terapii, buněčnou terapii a farmakoterapii s tzv. mutačně specifickými přístupy.

2.2.1.1 Genová terapie

Experimenty v oblasti genové terapie se soustředí na přenos mikrodystrofinu do genomu pomocí virového nosiče. Hlavní překážkou je zatím autoimunitní reakce organismu. Mikrodystrofin je u tzv. MDX myši (uměle vytvořený kmen s deficitem dystrofinu) pomocí virového vektoru (Adenoviry) inkorporován do genomu, kde

potom dochází ke tvorbě dystrofinu, a tím ke zlepšení svalové funkce. Dalším modelovým zvířetem je dystrofin deficientní zlatý retriever (GRMD). Po použití virového vektoru dochází k autoimunitní odpovědi a destrukci svalových buněk. Má-li být tato cesta úspěšná, bude nutné najít jiný virový vektor, který nevyvolá imunitní odpověď nebo použití imunosuprese.

2.2.1.2 Buněčná terapie (kmenové buňky)

Se stejnými potížemi se potýká i buněčná terapie s lokální aplikací myoblastů, mezangioblastů a CD133+ buněk. Zatím nejméně perspektivní a nejvzdálenější cesta. Při transferu myoblastů je nutné až 100 aplikací na cm^2 , protože se šíří jen 1–2 mm od místa aplikace a ve svalech se uchytí jen < 1 %. Jako model se používají MDX myši a GRMD (zlatý retriever); experimentuje se s mezangioblasty a CD133+ buňkami. Dalšími cestami je transplantace cizích buněk (autoimunitní reakce) a transplantace autologních geneticky modifikovaných buněk.

2.2.1.3 Farmakoterapie

2.2.1.3.1 Kortikoidy

Kortikoidy jsou v současnosti jedinou léčebnou alternativou, která zpomaluje pokles svalové síly u DMD (Mazur et al., 2008; Bushby et al., 2010). Vedou k prodloužení schopnosti samostatné chůze, zlepšení plicních funkcí a zmírnění rozvoje skoliózy. Účinnou dávkou prednisonu je 0,75 mg/kg tělesné hmotnosti/den. Každodenní podávání je účinnější než alternativní režim. Vyšší dávky nezvyšují benefit pro pacienta, nižší jsou méně účinné. Minimální účinnou dávkou je 0,3 mg/kg t.hm./den. Terapie musí být provázena proaktivním přístupem k řešení obvyklých komplikací steroidní terapie. Hlavními riziky jsou zástava růstu, diabetes, obezita, osteoporóza a vyšší frekvence fraktur (King et al., 2007). Podává se profylakticky vitamin D a kalcium, v testování je podávání růstového hormonu. Terapie by měla být zahájena po dosažení motorických milníků ve fázi stability („plateau“), což je zpravidla věk mezi 4–8 roky věku. Chlapec by měl mít před zahájením terapie provedena všechna potřebná očkování, zvl. ta která brání respiračním infekcím (pneumokokové infekce). Otázka, zda v terapii pokračovat i po ztrátě schopnosti chůze, je zatím předmětem studia, expertní názory se spíše kloní k pozitivní odpovědi (zpomalení zhoršování funkce HK, plicní kapacity a progresu skoliózy). Stejně účinný je i deflazocort, který se dává 0,9 mg/kg t.hm./den. Ve stejné indikaci byla testována i imunosupresiva: efekt cyklosporinu A ale nebyl prokázán.

2.2.1.3.2 Idebenone®

Jde o syntetický analog CoQ10, který vyrábí firma Santhera Pharmaceuticals. Studie fáze II je vyhodnocována a probíhá studie fáze III. Hodnocenými parametry jsou: zlepšení motorických a plicních funkcí a kvality života u nemocných s DMD.

2.2.1.3.3 Upregulace utrofinu

Farmakoterapie se soustředí na léky podporující upregulaci exprese utrofinu, který může částečně nahradit funkci dystrofinu: v lednu 2010 bylo firmou BioMarin Pharm. zahájeno testování látky BMN195 na zdravých dobrovolnících.

2.2.1.3.4 Inhibitory myostatinu

Dalším perspektivním směrem jsou inhibitory myostatinu, tedy látky zasahující do funkce genu GDF-8 (growth differentiation factor 8). Podkladem jsou výzkumy mutovaného genu GDF-8 u zvířat. Cílem je zvýšení svalové hmotnosti pomocí protilátek proti myostatinu, tedy vlastně „inhibice inhibitoru svalového růstu“. Jde o monoklonální protilátky ACE-031 a MYO-029 a látku ACVR2B.

ACE-031 je chimerická protilátka vyvinutá firmou Acceleron Pharma, která se od dubna 2010 testuje u dystrofinopatie (fáze II). Další chorobou, u které se předpokládá její využití je ALS.

U zdravých dobrovolníků vyvolalo jednorázové podání této látky vzestup svalové hmoty o jeden kg během jednoho týdne.

Podobný charakter má humanizovaná monoklonální protilátka MYO-029 (Stamulumab) firmy Wyeth Pharmaceuticals, která byla testována u dystrofinopatie, LGMD a FSHMD, výsledky studií fáze I a II nebyly zatím publikovány. Další testovanou molekulou je látka ACVR2B (Activin receptor typ 2B): nejde o protilátku, funkcí je zabránit myostatinu vazbě na další molekuly.

Další cestou je přenos folistatinu, což je protein inhibující myostatin, pomocí virového vektoru AAV8. Metoda byla testována na myších a opicích.

2.2.1.4 Mutačně specifické přístupy

2.2.1.4.1 Látka PTC 124

Látka PTC 124 umožňuje u nemocných s dystrofinopatií Duchennerova typu, u kterých je podkladem choroby bodová mutace se stop kodonem (15 % nemocných), její překlenutí a tedy tvorbu sice mutovaného, ale alespoň částečně funkčního dystrofinu. Nadějně experimentální výsledky se bohužel neukázaly v klinické praxi účinné: došlo k expresi dystrofinu, ale funkční stav se nezlepšil. Klinická studie ve fázi IIb by-

la zastavena (preparát firmy PTC Therapeutics Ataluren®). Látka funguje nespecificky na mutaci se stop kodonem (UAA, UAG, UGA), který ruší čtecí rámec a byla testována i u jiných nemocí, kde je patogenetickým podkladem bodová mutace rušící čtecí rámec např. cystická fibróza či hemofilie. Podkladem je starší pozorování, kdy aminoglykosidová antibiotika (např. gentamycin) dokázala překonat tyto bodové mutace jak v prokaryontních, tak eukaryontních buňkách. Dlouhodobé použití gentamycinu u DMD však bylo limitováno jeho nežádoucími účinky (Barton-Davis et al., 1999; Politano et al., 2003).

2.2.1.4.2 „Exon skipping“ strategie

Největší pokrok dosáhla zatím strategie, která se nazývá „exon skipping“, tedy přeskočení deletovaných exonů u nemocných s Duchenneovou svalovou dystrofií, což umožňují tzv. antisense oligonukleotidy (AON), tedy speciální malé části modifikované RNA (schéma 1). Výsledkem je opět produkce alespoň částečně funkčního dystrofinu. (U dystrofin deficientních myší vede k produkci „Becker-like“ dystrofinu a i k funkčnímu zlepšení.) Na každý „hot spot“ (tedy místo častěji se vyskytující delece) je třeba připravit jiný AON. Nejdále je v klinickém výzkumu látka PRO051 firmy Prosensa, což je AON sloužící k přemostění exonu 51. Tato tvoří 13 % všech mutací u DMD. V roce

2010 byla s tímto lékem zahájena multicentrická mezinárodní klinická studie fáze III. V testování ve fázi I a II je látka PRO044 (delece v exonu 44) a v preklinickém výzkumu jsou molekuly zaměřené na delece v exonech 45, 52, 53 a 55. Kromě vlastního principu genové terapie, který funguje v experimentu na zvířecím modelu nebo při přímé intramuskulární aplikaci, musí výzkumné týmy překlenout další překážku a vytvořit použitelné léky pro celkovou i.v. nebo s.c. aplikaci.

2.2.2 Myotonická dystrofie typ I

U myotonické dystrofie se potenciální léčebné strategie soustředí na klíčový pochod, kterým je hromadění expandované RNA (CUG triplety) a její toxické účinky na intracelulární pochody, kdy dochází k misregulaci RNA homeostázy. RNA shluky na sebe vážou proteiny, zvl. protein MBNL (Furling et al., 2001), který hraje pravděpodobně v patofyziologii MD klíčovou úlohu. Intramuskulární aplikace specifických antisense oligonukleotidů (morpholino AON) vede k redukci shluků RNA a redistribuce MBNL (Wheeler et al., 2009).

Dalším směrem je vývoj virových vektorů (Furling et al., 2003), které přímo v buňkách produkují antisense RNA, které zabraňují expresi patologicky expandované alely DMPK (Vektorem je virus M-MLV: Moloney murine leukemia vi-

Schéma 1. „Exon skipping strategie“ 1 – DNA normálního dystrofinu a jeho sestřih 2a – DNA u nemocného s DMD – po sestřihu vzniká stop-kodon, který ruší čtecí rámec. Důsledkem je nefunkční zkrácený dystrofin 2b – antisense oligonukleotid (AON) přemostí poškozenou oblast a umožní sestřih „čitelné“ pre-mRNA a vznik alespoň částečně funkčního dystrofinu charakteru BMD (BMD-like dystrofin)



rus). Pro tuto metodu se používá termín „gene silencing“, tedy něco jako vypnutí či ztlumení genu. Podobně jsou testovány na myším modelu možnosti přenosu MBNL proteinu pomocí adenovirů.

2.2.3 Facioskapulohumerální svalová dystrofie (FSHMD)

Genetickým podkladem je zkrácení D4Z4 fragmentu na dlouhém raménku 4. chromozomu. Patofyziologie svalového postižení je ze všech nejčastějších svalových dystrofií nejkomplikovanější a nejméně jasná. Experimenty se zaměřují na potlačení „overexpres“ genu FRG1 metodou RNA interference („gene silencing“) cestou adenovirových vektorů a potlačení „overexpres“ genu DUX4. Byly testovány inhibitory myostatínu (MYO029-Stamulumab) bez valného efektu. Vzhledem k selektivnímu postižení určitých svalů, což je pro tuto svalovou dystrofii charakteristické, se v experimentu zkouší i transfer myoblastů z nepostižených do zasažených svalů.

Určitou úlevu mohou přinést nemocným s FSHMD i ortézy, event. ortopedické zákroky charakteru skapulohumerální artrodézy, která zlepší ovládání horních končetin.

Literatura

- Amalfitano A, Bengur AR, Morse RP, Majure JM, Case LE, Veerling DL, Mackey J, Kishnani P, Smith W, McVie-Wylie A, Sullivan JA, Hoganson GE, Phillips JA 3rd, Schaefer GB, Charrow J, Ware RE, Bossen EH, Chen YT. Recombinant human acid α -glucosidase enzyme therapy for infantile glycogen storage disease type II: results of a phase I/II clinical trial. *Genet Med* 2001; 3: 132-138.
- Barton-Davis ER, Cordier L, Shoturma DI, Leland SE, Sweeney HL. Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice. *J Clin Invest* 1999; 104: 375-381.
- Bensaid J, Vallat JM, Amsallem D, Bernard Y, Rauscher M, Borsotti JP. La paralysie auriculaire permanente totale. *Revue de la littérature a propos de 109 cas. Ann Cardiol Angeiol* 1995; 44: 139-145.
- Bione S, Maestrini E, Rivella S, Mancini M, Regis S, Romeo G, Toniolo D. Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nature Genet* 1994; 8: 323-327.
- Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, Case LE, Clemens PR, Cripe L, Kaul A, Kinnett K, McDonald C, Pandya S, Poysky J, Shapiro F, Tomezsko J, Constantin C. DMD Care Considerations Working Group. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol*. 2010; 9: 77-93.
- Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, Case LE, Clemens PR, Cripe L, Kaul A, Kinnett K, McDonald C, Pandya S, Poysky J, Shapiro F, Tomezsko J, Constantin C. DMD Care Considerations Working Group. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. *Lancet Neurol*. 2010; 9: 177-189.
- Dubowitz V. Clinical myology at the crossroads; the gospel truth. *Neuromuscul Disord* 2010; 20: 95-96.
- Furling D, Lemieux D, Tajena K, Puymirat J. Decreased levels of myotonic dystrophy protein kinase (DMPK) and delayed differentiation in human myotonic dystrophy myoblasts. *Neuromuscul Disord* 2001; 11: 728-735.
- Furling D, Doucet G, Langlois MA, Timchenko L, Belanger LE, L Cossette L, Puymirat J. Viral vector producing antisense RNA restores myotonic dystrophy myoblast functions. *Gene Therapy* 2003; 10: 795-802.
- Hagemans ML, Winkel LP, Van Doorn PA, Hop WJC, Lionem MCB, Reuser AJJ, Van der Ploeg AT. Clinical manifestation and natural course of late-onset Pompe's disease in 54 Dutch patients. *Brain* 2005; 128: 671-677.
- King WM, Ruttencutter R, Nagaraja HN, Matkovic V, Landoll J, Hoyle C, Mendell JR, Kissel JT. Orthopedic outcomes of long-term daily corticosteroid treatment in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 2007; 68: 1607-1613.
- Kishnani PS, Corzo D, Nicolino M, Byrne B, Mandel H, Hwu WL, Leslie N, Levine J, Spencer C, McDonald M, Li J, Dumontier J, Halberthal M, Chien YH, Hopkin R, Vijayaraghavan S, Gruskin D, Bartholomew D, Van der Ploeg A, Clancy JP, Parini R, Morin G, Beck M, De la Gastine GS, Jokic M, Thurberg B, Richards S, Bali D, Davison M, Worden MA, Chen YT, Wraith JE. Recombinant human acid α -glucosidase: major clinical benefits in infantile-onset Pompe disease. *Neurology* 2007; 68: 99-109.
- Kishnani PS, Corzo D, Leslie ND, Gruskin D, Van der Ploeg A, Clancy JP, Parini R, Morin G, Beck M, Bauer MS, Jokic M, Tsai CE, Tsai BW, Morgan C, O'Meara T, Richards S, Tsao EC, Mandel H. Early treatment with α -glucosidase alfa prolongs long-term survival of infants with Pompe disease. *Pediatr Res* 2009; 66: 329-355.
- Manzur AY, Kuntzer T, Pike M, Swan A. Glucocorticoid corticosteroids for Duchenne muscular dystrophy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2008, Issue 1. Art No: CD003725. Dostupný z WWW: <http://www.mrw.interscience.wiley.com/cochrane/clsysrev/articles/CD003725/frame.html>.
- Nicolino M, Byrne B, Wraith JE, Leslie N, Mandel H, Freyer DR, Arnold GL, Pivnick EK, Ottinger CJ, Robinson PH, Loo JC, Smitka M, Jardine P, Tatò L, Chabrol B, McCandless S, Kimura S, Mehta L, Bali D, Skrinar A, Morgan C, Rangachari L, Corzo D, Kishnani PS. Clinical outcomes after long-term treatment with α -glucosidase alfa in infants and children with advanced Pompe disease. *Genet Med* 2009; 11: 210-219.
- Van der Ploeg AT, Clemens PR, Corzo D, Escobar D, Florence J, Groeneveld GJ, Herson S, Kishnani PS, Laforet P, Lake SL, Lange DJ, Leshner RT, Mayhew JE, Morgan C, Notami K, Park DJ, Pestronk A, Rosenbloom B, Skrinar A, Van Capelle CI, Van der Beek NA, Wasserstein M, and Zivkovic SA. A Randomized Study of α -Glucosidase Alfa in Late-Onset Pompe's Disease. *N Engl J Med* 2010; 362: 1396-1406.
- Politano L, Nigro G, Nigro V, Piluso G, Papparella S, Paciello O, Comi LI. Gentamicin administration in Duchenne patients with premature stop codon. Preliminary results. *Acta Myol* 2003; 22: 15-21.
- Vohanka S, Vytopil M, Bednarik J, Lukas Z, Kadanka Z, Schildberger J, Ricotti R, Bione S, Toniolo D. A mutation in the X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy gene in a patient affected with conduction cardiomyopathy. *Neuromuscul Disord* 2001; 11: 411-413.
- Vytopil M, Vohánka S, Šišáková M. Postižení srdce u hereditárních svalových onemocnění. Část I. Dystrofinopatie. *Cesk Slov Neurol*. N 2001; 64(97): 87-94.
- Vytopil M, Vohánka S, Šišáková M. Postižení srdce u hereditárních svalových onemocnění. Část II. Myotonická dystrofie, sarkoglykanopatie a Emeryho-Dreifussova svalová dystrofie. *Cesk Slov Neurol*. N 2001; 64(97): 144-151.
- Wheeler TM, Sobczak K, Lueck JD, Osborne RJ, Lin X, Dirksen RT, Thornton CA. Reversal of RNA dominance by displacement of protein sequestered on triplet repeat RNA. *Science* 2009; 325(5938): 336-339.

Článek doručen redakci: 2. 1. 2011
Článek přijat k publikaci: 18. 1. 2011

MUDr. Stanislav Vohánka, CSc., MBA
Neurologická klinika LF MU a FN Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno
svohanka@fnbrno.cz

