

# Forschungsübersicht

Ziel dieser Übersicht ist es, Patienten und Eltern über die verschiedenen therapeutischen Ansätze für die Muskeldystrophie Duchenne zu informieren, die derzeit untersucht werden, um die Vor- und Nachteile jedes Ansatzes zu beschreiben und die Hürden aufzuzählen, die überwunden werden müssen, bevor diese Ansätze an Patienten angewendet werden können.

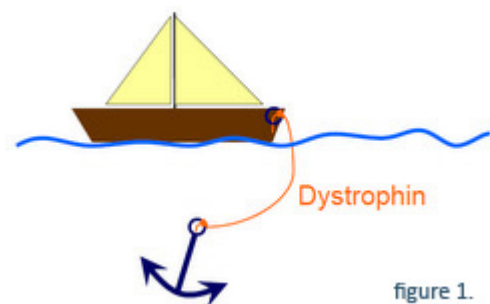
**Anmerkung:** Das wissenschaftliche Gebiet der Duchenne-Therapien ist riesig und entwickelt sich rasch, so dass es unmöglich ist, jeden einzelnen Ansatz in einen kurzen Überblick einzubeziehen. Deshalb wird ein allgemeiner Überblick über die wichtigsten Ansätze gegeben.

**Diese Übersicht wurde zuletzt im März 2018 aktualisiert.**

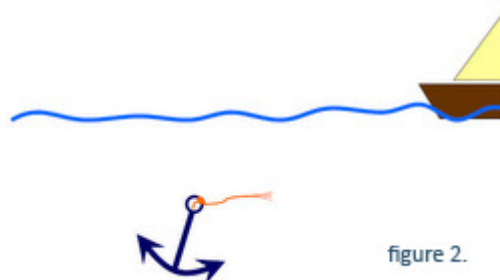
Die Finanzierung von Reisekosten durch das Duchenne Parent Project (Niederlande) und das Duchenne Parent Project ONLUS (Italien), um Annemieke Aartsma-Rus die Teilnahme an jährlichen internationalen Treffen in den USA und Italien zu ermöglichen, wird dankbar anerkannt.

## Das Problem

Die Muskeldystrophie Duchenne wird durch Mutationen (genetische Fehler) verursacht, die den genetischen Code des Dystrophin-Gens unterbrechen. Dieses Gen wird normalerweise durch Muskelzellen in das Dystrophin-Protein übersetzt, das das Skelett der Muskelfasern mit der Schutzschicht auf der Außenseite der Fasern verbindet. Diese Verbindung stabilisiert die Muskelfasern während der Muskelkontraktion (Bewegung). Ich möchte die Funktion von Dystrophin durch die Analogie eines Ankers (das Skelett des Muskels) und eines Bootes (die Schutzschicht außerhalb) erklären, wobei Dystrophin das Seil ist, das die beiden verbindet.



Durch die Unterbrechung des genetischen Codes kann nur der Anfang des Proteins durch die Zelle produziert werden und die Verbindungsfunktion geht verloren (das Boot ist nicht mehr mit dem Anker verbunden, Abbildung 2). Infolgedessen werden Duchenne-Muskelfasern sehr leicht beschädigt, auch während normaler Bewegung.



Mutationen im Dystrophin-Gen, die den genetischen Code nicht unterbrechen, erlauben die Erzeugung eines Dystrophins, das teilweise funktionell ist (d.h. es kann den Anker mit dem Boot verbinden, ist aber etwas kürzer (Abbildung 3)). Diese Mutationen sind mit der weniger schweren Muskeldystrophie Becker assoziiert.

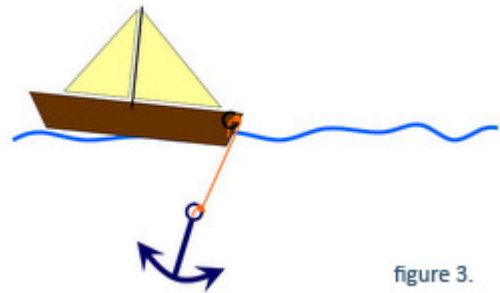


figure 3.

## Entwicklung therapeutischer Ansätze

Es gibt zahlreiche therapeutische Ansätze in der Entwicklung und die Mehrheit folgt dem gleichen Weg von präklinischen hin zu klinischen Studien. Zuerst wird der Ansatz in kultivierten Patientenzellen getestet, dann in [Tiermodellen](#) der Erkrankung (in der Regel die [mdx-Maus](#)) und dann – wenn die Ergebnisse in Zellen und Tieren hinreichend überzeugend sind, an Patienten (klinische Studien). Dieser Teil der therapeutischen Entwicklung kann sehr lange dauern, da oft unvorhergesehene Hürden auftauchen, die überwunden werden müssen. Klinische Studien werden in zwei Phasen unterteilt: Die Studien der frühen Phase werden in erster Linie durchgeführt, um zu zeigen, dass der Ansatz sicher ist, während in Studien der späteren Stufen das Ziel ist zu zeigen, dass die Behandlung sowohl wirksam als auch sicher ist. Man sollte berücksichtigen, dass zwar jeder Schritt kritisch ist, der nächste Schritt aber immer herausfordernder ist. Wenn also ein Präparat in einem ersten Schritt (z.B. Zellstudien) funktioniert, ist dies keine Garantie für weitere Erfolge in Studien an Tieren und Menschen.

### Gentherapie

**Ziel:** Ein gesundes Gen an Duchenne-Muskeln zu liefern, um eine normale Dystrophinproduktion zu ermöglichen.

**Hintergrund:** Gene bestehen aus DNS und befinden sich auf Chromosomen, die in den Kernen aller Zellen vorhanden sind. Das Dystrophin-Gen enthält den genetischen Code für Dystrophin, der von der Zelle gelesen und in das Dystrophin-Protein übersetzt werden kann.

**Herausforderung** Wir haben viele Muskeln – etwa 30-40 % unseres Körpergewichts ist Muskulatur und wir haben mehr als 750 verschiedene Muskeln, die jeweils aus Milliarden und Milliarden von Zellen bestehen. Das gesunde Gen muss an einen bestimmten Anteil der Zellkerne aller Muskeln geliefert werden.

**Lösung:** Glücklicherweise gibt es einen Organismus, der ganz gut darin ist, Gene in Zellen zu injizieren: das Virus. So hat das Feld der Gentherapie virale Vektoren entwickelt, wobei die viralen

Gene entfernt werden, so dass es Raum für das neue Gen gibt und die modifizierten Viren nicht mehr pathogen sind.

Herausforderung Die meisten Viren mögen es, sich teilende Zellen zu infizieren.  
2: Muskelgewebe teilt sich kaum und ist somit ein schlechtes Ziel. Darüber hinaus sind Muskelfasern von Bindegewebsschichten umhüllt, welche virale Partikel abfangen, so dass das Virus die Muskelfaser nicht erreichen kann, um sein Dystrophin-Gen zu injizieren.

Lösung: Es gibt ein Virus, das relativ gut bei der Infektion von Muskelzellen ist, das sogenannte AAV-Virus. Dieses Virus kann menschliche Zellen infizieren, ist aber nicht pathogen (es verursacht keine Krankheit).

Herausforderung Leider ist AAV so klein, dass der genetische Code von  
3: Dystrophin nicht passt (das ganze Gen ist ~500 mal zu groß, der genetische Code ~4 mal zu groß).

Lösung: Wissenschaftler haben versucht, das kleinstmögliche Dystrophin zu kreieren, das nur die bloßen essentiellen Domänen enthält (Mikro-Dystrophin). Der genetische Code dieses Mikro-Dystrophins ist klein genug, um in den AAV-Vektor zu passen.

Im Duchenne-Mausmodell (*mdx*-Maus) führte die Behandlung mit Mikro-Dystrophin enthaltenden AAV-Viren zu einer verbesserten Muskelqualität und -funktion.

Herausforderung Als ein Hundemodell (Golden-Retriever-Muskeldystrophie  
4: oder GRMD) mit AAV-Mikrodystrophin behandelt wurde, führte dies zu einer Immunantwort. Folglich wurden Zellen, die mit den Mikro-Dystrophin enthaltenden AAV infiziert waren, durch das Immunsystem zerstört. Aus klinischen Studien bei Menschen mit anderen Genen (z.B. zur Behandlung von Hämophilie) wissen wir, dass AAV auch eine Immunantwort beim Menschen induziert. Die Immunantwort wird alle fremden Eindringlinge (Viren, Bakterien, Parasiten) angreifen und hat keine Möglichkeit zu wissen, dass diesmal das Virus ein gutes Gen trägt.

Lösung: Wege zur Reduzierung der Immunantwort werden derzeit untersucht. Dies kann durch die Unterdrückung der Immunantwort oder durch die Identifizierung von AAV-Subtypen erfolgen, die bei Menschen weniger immunogen sind (es gibt viele AAV-Subtypen). Es wurde kürzlich festgestellt, dass die Behandlung von GRMD-Hunden mit einem weniger

immunogenen AAV möglich ist und für mindestens zwei Jahre zu einer Expression von Mikrodystrophin führt.

Zu beachten: Etwa 20 % der Personen wurden mit einem Subtype von AAV infiziert. Diese Personen haben Antikörper gegen AAV, die sie davon abhalten würden, virale Vektoren dieses spezifischen Subtype zu erhalten.

Klinische Studien: Eine [erste klinische Studie](#), in der Patienten lokale AAV-Mikrodystrophin-Injektionen in den Armmuskel erhielten, wurde in den USA (Mendell, Xiao Xiao und Samulski) durchgeführt. Diese Studie wurde mit einem AAV-Subtyp durchgeführt, von dem wir heute wissen, dass er sehr immunogen ist. Ergebnisse dieser Studie wurden [veröffentlicht](#). Die Autoren berichten von einer sehr schwachen Expression ihrer Mikrodystrophin-Variante und der erwarteten Immunantwort auf AAV.

Herausforderung: Wie erwähnt, machen Muskeln 30-40 % unseres Körpers aus. Um eine Wirkung zu haben, müssen alle Muskeln oder Muskelgruppen behandelt werden anstelle nur eines kleinen Bereichs eines einzigen Muskels. Allerdings erfordert dies riesige Mengen an Virus (ein Junge wiegt ~4000 mal mehr als eine junge Maus).

Lösung: Nach der Optimierung des Herstellungsprozesses können viel mehr virale Partikel in klinischem Grad produziert werden, was Studien erlaubt, in denen Muskelgruppen (z.B. im Arm oder Bein) behandelt werden, oder sogar der ganze Körper, anstatt lediglich kleine Muskelstücke.

Klinische Studien 2: Eine klinische Studie, in der AAV-Mikrodystrophin intravenös an junge Duchenne-Patienten verabreicht wird, wurde eingeleitet. Parallel dazu werden von Solid Ventures, Pfizer und Genethon Vorbereitungen für Studien mit leicht unterschiedlichen AAV-Mikrodystrophin-Systemen getroffen.

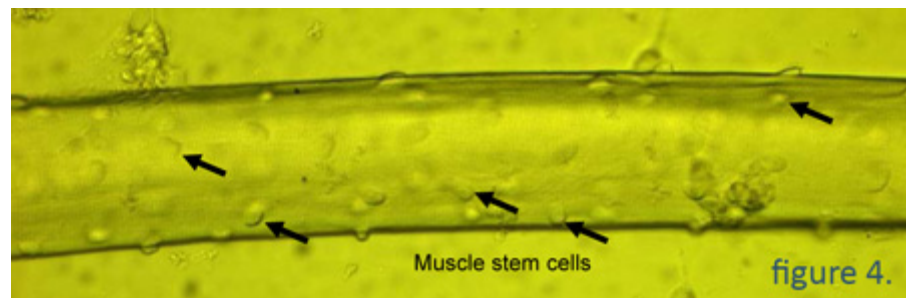
AAV integriert sich nicht in die DNS. Dies ist aus Sicherheitsgründen gut, bedeutet aber auch, dass im Laufe der Zeit das Mikrodystrophin-Gen verloren gehen kann. Studien an dystrophischen Hunden deuten darauf hin, dass das meiste des zugeführten Gens nach 5 Jahren verloren gegangen ist. Es ist nicht bekannt, ob dies auch bei Menschen der Fall ist.

Zu beachten: Eine aktuelle Sicherheitsstudie bei Hunden und Affen zeigt, dass hohe Dosen von AAV-Vektoren zu Leber- und Gehirnproblemen führen können. Beachten Sie, dass sich der in dieser Studie verwendete Vektortyp von denen unterscheidet, die für Mikrodystrophin-Studien verwendet werden.

## Zelltherapie

**Ziel:** Muskelzellen von einem gesunden Spender (die ein gesundes Gen enthalten) an Duchenne-Muskeln zu liefern, um verlorenes Muskelgewebe auszugleichen und eine normale Dystrophinproduktion durch die Spenderzellen zu ermöglichen.

**Hintergrund:** Ein Muskel besteht aus Muskelfasern, die sich nicht teilen, und Muskelstammzellen, die oben auf der Faser liegen (Abbildung 4). Wenn die Muskelfaser beschädigt ist, beginnen diese Muskelstammzellen (auch Satellitenzellen oder Myoblasten genannt) sich zu teilen und werden zum Ort des Schadens wandern und mit dem beschädigten Muskel verschmelzen, um ihn zu reparieren. Diese Stammzellen können aus einer Muskelbiopsie isoliert und im Labor ausgedehnt und anschließend in den Duchenne-Muskel transplantiert werden.



Herausforderung 1: Muskelstammzellen können sich nicht aus dem Blutkreislauf in den Muskel bewegen.

Lösung: Lokale Injektion in die betroffenen Muskeln.

Herausforderung 2: Sogar Muskeln, die direkt in Muskeln injiziert werden, wandern nicht mehr als 1-2 mm vom Stichkanal weg.

Lösung: Mehrere Injektionen (z. B. 100 in einem Quadratzentimeter) durchführen. Dies wurde bei Duchenne-Patienten getestet ([siehe auch hier](#)) und Dystrophin-positive Zellen wurden tatsächlich an den

Injektionsstellen beobachtet.

Klinische Studie: Eine klinische Studie, bei der Muskelstammzellen mit 100 Injektionen in einem kleinen Muskelbereich (0,25-1 cm<sup>2</sup>) injiziert wurden, wurde in Kanada ([Tremblay](#) und [Skuk](#)) abgeschlossen. Die Behandlung war sicher und Dystrophin-positive Fasern konnten in einer Biopsie aus dem behandelten Bereich entdeckt werden. [Eine neue Studie](#) für lokale Myoblast-Transplantation in einem Unterarmmuskel von Patienten von 16 Jahren und älter läuft derzeit in Kanada.

Herausforderung 3: Trotzdem ist es unmöglich, diese Form der Behandlung zu verwenden, um Muskelzellen an alle Muskeln im Körper zu liefern.

Lösung: Es gibt noch andere Stammzellen in Blut, Blutgefäßwänden und Fettgewebe, die auch an der Muskelbildung teilnehmen können. Diese Zellen können im Labor isoliert und ausgedehnt werden. Ein Vorteil ist, dass diese Zellen vermutlich in der Lage sind, aus dem Blutkreislauf in die Muskeln zu reisen, so dass eine körperweite Behandlung möglich ist.

Herausforderung 4: Obwohl diese Zellen in der Lage sind, an der Muskelbildung teilzunehmen, ist die Effizienz im Moment sehr gering (< 1 % der transplantierten Zellen enden als Muskel).

In Durchführung: Eine [Studie](#), bei der CD133+ -Zellen von Duchenne-Patienten gewonnen wurden (aus dem Blut isoliert), im Labor ausgedehnt und dann wieder in die Handmuskulatur der Patienten verpflanzt wurden, wurde in Italien (Torrente) abgeschlossen.

Zukunft: Wege zur Steigerung der Effizienz dieses Ansatzes werden derzeit untersucht. Vielversprechende Ergebnisse wurden in Maus- und Hundemodellen mit „Mesangioblasten“ (Gruppe von Giulio Cossu) und „CD133+“-Zellen (Gruppe von Ivan Torrente) erhalten.

Klinische Studie: Eine Studie zur Beurteilung der Sicherheit der Transplantation von Mesangioblasten (erhalten von nicht betroffenen Brüdern) bei Duchenne-Patienten wurde in Italien ([Cossu](#)) durchgeführt. Fünf Patienten wurden Mesangioblasten intraarteriell injiziert. Dies war eine Sicherheitsstudie und keine Verbesserung der Muskelfunktion wurde erwartet oder festgestellt. Weitere Arbeiten sind im Gange, um das Transplantationsprotokoll für mögliche zukünftige Studien zu verbessern.

Herausforderung 5: Es ist schwierig, ausreichende Mengen an Stammzellen für die Transplantation zu erhalten, da diese Stammzellen nur eine begrenzte Fähigkeit haben, sich zu teilen.

Lösung: Es ist jetzt möglich, erwachsene Zellen neu zu programmieren, damit sie Stammzelleneigenschaften (induzierte pluripotente Stammzellen oder iPS-Zellen) erwerben. Diese Zellen haben ein riesiges proliferatives Potential und können in alle möglichen Zelltypen differenzieren. Allerdings ist der Trick, sie nur in Muskelvorläuferzellen differenzieren zu lassen. Die Arbeit ist derzeit im Gange, um iPS-Zellen klinischen Grades zu erzeugen und das Protokoll zu optimieren, um Muskelvorläuferzellen auf sichere und effiziente und standardisierte Art und Weise zu erhalten.

Herausforderung 6: Die Transplantation der Spendermuskeln wird eine Immunantwort hervorrufen (wie die Transplantation jedes Gewebes in eine andere Person).

Lösung a: Verabreichung von Medikamenten, die das Immunsystem unterdrücken. Dies ist eine Standardbehandlung für Personen, die Spendergewebe erhalten. Leider ist eine chronische Behandlung mit diesen Medikamenten nicht ohne Nebenwirkungen (z.B. ist man anfälliger für Infektionen).

Lösung b: Muskelzellen von den Patienten isolieren, sie im Labor ausweiten und im Labor behandeln (z.B. mit Gentherapie). Dann die eigenen Zellen des Patienten zurück transplantieren (autologe Transplantation). Die Gentherapie ist in den Zellen (im Labor) viel effizienter als im Gewebe (in einer Person). Darüber hinaus ist eine Immunsuppression nicht notwendig, weil die eigenen Zellen des Patienten transplantiert werden.

Herausforderung 7: Damit dies funktioniert, müssen Wege zur effizienten Zufuhr von Muskelzellen oder anderen Stammzellen zum Muskel noch optimiert werden (siehe Herausforderung 1-4). Darüber hinaus ist es möglich, dass das Immunsystem noch immer auf die transplantierten Zellen reagiert, obwohl sie vom Patienten sind: Aufgrund der Manipulation im Labor sind die Zellen wahrscheinlich verändert und das Immunsystem kann das wahrnehmen.

Lösung: Im Labor ist es nun möglich, kleinere Veränderungen in der DNS einer Zelle vorzunehmen, ohne ein Gen hinzuzufügen (unter Verwendung von DNS-„Scheren“ – verschiedene Typen wurden entwickelt: ZNF, TALEN und RGN (auch als CRISPR/Cas9 bezeichnet). Diese DNS-Scheren arbeiten mit einer geringen Effizienz. In kultivierten Zellen muss die Zelle, in der die Schere

erfolgreich war, identifiziert werden (meist nur ~1 von 1000) und dann ausgedehnt werden, um in Mausmodellen transplantiert zu werden.

Im Allgemeinen ist der genetische Fehler im Dystrophin ziemlich groß und die DNS-Schere kann keine großen Fehler reparieren. Allerdings ist es möglich, einen Fehler einzuführen, um ein Exon dauerhaft zu verstecken (siehe Abschnitt Exon-Skipping). Diese Arbeit ist in einem frühen Stadium und eine Menge Arbeit wird nötig sein, um zu beurteilen, ob diese Methode sicher ist und ob sie für den Menschen anwendbar ist. Im Jahr 2016 zeigten drei Publikationen in der Zeitschrift Science einen Beweis für diesen Ansatz im *mdx*-Mausmodell. Während dies ermutigend ist, sollte man bedenken, dass die DNS-Scheren an die Mehrheit der Muskelzellen geliefert werden müssen. Als solches steht es vor den Herausforderungen der Gentherapie oder der Zelltherapie in Bezug auf den Schritt der Übersetzung von Maus und größeren Tieren und Menschen.

Eine weitere  
Möglichkeit,  
Stammzellen zu  
verwenden

Herzstammzellen können das Potenzial haben, die Herzpathologie bei DMD-Patienten vorübergehend zu verlangsamen, indem sie schützende Wachstumsfaktoren produzieren. Dieser Effekt ist temporär, da die Stammzellen absterben. Capricor hat eine Sicherheitsstudie an DMD-Patienten mit Herzerkrankungen durchgeführt, um zu bestimmen, wie gut die lokale Injektion von Spenderherzstammzellen in das Herz vertragen wird. Das Verfahren war gut verträglich und es gab eine kleine Reduzierung von Fibrose, die in den Herzen von Patienten in der behandelten Gruppe erkennbar war. Darüber hinaus gab es einen Trend zur Verbesserung der Funktion der oberen Extremitäten. Capricor plant Folgestudien, um die Ergebnisse zu bestätigen und zu testen, ob eine intravenöse Verabreichung der Stammzellen möglich ist. Die Stammzellen werden alle 3 Monate injiziert.

## Medikamentöse Therapie

**Ziel:** Medikamente zu verwenden, um die verschiedenen Aspekte der Krankheitspathologie zu behandeln.

**Hintergrund:** Aufgrund des Verlustes von Dystrophin werden die Muskelfasern des Patienten während der Bewegung kontinuierlich beschädigt. Das verlorene Muskelgewebe wird durch Narbengewebe („Fibrose“) und Fettgewebe („Adipose“) ersetzt. Dieser Prozess ist irreversibel und wird durch eine Immunantwort verstärkt, die durch den Muskelschaden



ausgelöst wird. Medikamente können helfen, das Muskelwachstum zu erhöhen, um das verlorene Muskelgewebe zu kompensieren. Alternativ können sie das Immunsystem unterdrücken oder die Bildung von Narbengewebe hemmen.

**Nachteil:** Die Medikamente behandeln nur (einen Teil der) Symptome der Krankheit, nicht die Ursache. Dennoch, wenn es erfolgreich ist, kann dies das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamen.

**Vorteil:** Generell können Medikamente oral eingenommen werden und auf alle Muskeln im Körper einwirken (keine Abgabeprobleme wie bei Gen- und Zelltherapie zu beobachten). Manchmal können Medikamente, die bereits verwendet wurden, um andere Krankheiten zu behandeln, auch verwendet werden, um Duchenne-Patienten zu behandeln. Dies beschleunigt den Übergang zur klinischen Anwendung, da bereits viele Informationen über das Medikament bekannt sind (z. B. Toxizität, Dosis usw.).

Es gibt eine Vielzahl von Medikamenten, die angeblich bei Duchenne-Patienten und/oder dystrophischen Mausmodellen von Vorteil sind. In diesem Abschnitt führen wir diejenigen an, die an Patienten getestet wurden und diejenigen, die sehr vielversprechende Ergebnisse in Mausmodellen gezeigt haben.

Wir haben die verschiedenen Medikamente in die folgenden Bereiche aufgeteilt.

## Entzündungshemmende Medikamente

### Kortikosteroide (Prednison, Deflazacort etc.)

**Ziel:** Das Immunsystem unterdrücken, um die Bildung von Narbengewebe zu reduzieren.

**Hintergrund:** Kortikosteroide sind eine Gruppe von Medikamenten, die das Immunsystem unterdrücken können. Wenn Muskelgewebe beschädigt wird, wird dies eine Immunantwort hervorrufen (der Körper weiß nicht, was den Schaden verursacht – es könnte auch ein Virus, Bakterien usw. sein). Während die Immunantwort die besten Absichten hat (um den Körper vor Infektionen zu schützen), erhöht das Immunsystem in diesem Fall die Schwere

der Erkrankung. Immunzellen schütten giftige Substanzen aus (die Bakterien abtöten sollen etc.), die den Muskelschaden weiter erhöhen und die Bildung von Narbengewebe verstärken.

Durch die Unterdrückung des Immunsystems mit Kortikosteroiden wird der Muskelschaden weniger schwerwiegend und weniger Narbengewebe wird gebildet.

Klinische Studien: Nicht so viele [viele Studien](#) wurden durchgeführt, um Patienten, die mit Kortikosteroiden behandelt wurden, und solche ohne zu vergleichen oder ein Kortikosteroid mit einem anderen zu vergleichen (z.B. Prednison mit Deflazacort), aber der allgemeine Konsens ist, dass Kortikosteroide die Krankheitsprogression verzögern und daher sind sie Teil der [Standardbehandlung von DMD](#). Sie werden die Rollstuhlabhängigkeit um ~1-3 Jahre verzögern, vorübergehend die Muskelkraft und Funktion verbessern und den Verlust der Atemfunktion verzögern. Steroide wurden nicht lange genug verwendet, um zu wissen, ob sie das Überleben verbessern.

Es ist sehr wahrscheinlich, dass Kortikosteroide auch auf anderen Ebenen als Immunsuppression funktionieren (es wird angenommen, dass sie die Expression von Utrophin erhöhen und/oder Muskelfasern stabilisieren können, so dass sie weniger empfindlich auf Schäden sind). Das wird noch untersucht. Allerdings unterstreicht die Erkenntnis, dass Medikamente, die nur das Immunsystem unterdrücken, weniger wirksam sind als Kortikosteroide (siehe z.B. unten im Abschnitt über Cyclosporin) diese Idee.

Herausforderung 1: Kortikosteroide müssen regelmäßig und langfristig eingenommen werden. Dies führt zu Nebenwirkungen bei den meisten Patienten. Die häufigsten sind Gewichtszunahme, Depressionen, Verhaltensprobleme, Wachstumsretardierung, verzögerte Pubertät und Verlust der Knochenmasse, aber viele mehr wurden beschrieben.

Lösung 1a: Für manche Patienten können Nebenwirkungen durch ein „On-Off“-Behandlungsschema reduziert werden. Steroide werden z.B. nur jede zweite Woche eingenommen oder nur während der Wochentage und nicht an Wochenenden oder hohe Dosen werden nur während der Wochenenden genommen. Für einige

Patienten treten weniger Nebenwirkungen auf, wenn Deflazacort eingenommen wird.

Lösung 1b: Manche Patienten können keine chronische Behandlung mit Kortikosteroiden tolerieren. Wenn die Nebenwirkungen gegenüber den Vorteilen überwiegen (z.B. Gewichtszunahme in einem solchen Ausmaß, dass es die Muskelfunktionalität beeinträchtigt anstatt sie zu verstärken), kann es am besten sein, die Behandlung zu stoppen (dies sollte natürlich nur nach der Diskussion mit dem behandelnden Kliniker erfolgen, da das abrupte Beenden der Steroidbehandlung zu schweren Nebenwirkungen führen kann).

Herausforderung 2: Viele verschiedene Kortikosteroid-Behandlungsschemata werden von verschiedenen Patienten verwendet. Es ist noch nicht bekannt, ob ein Regime optimaler ist als andere. Darüber hinaus wäre es für klinische Studien, die therapeutische Ansätze testen, bevorzugt, wenn ein standardisierteres Regime von allen Patienten in der Studie verwendet werden würde.

Lösung 2: Die [FOR-DMD](#)-Studie vergleicht vorteilhafte Effekte und Nebenwirkungen der am häufigsten verwendeten Dosierungsschemata von Prednisolon (tägliche Behandlung vs. 10 Tage Einnahme – 10 Tage Pause) und die tägliche Behandlung mit Deflazacort. Die Studie findet in mindestens 40 Muskelkliniken in den USA, Kanada, Großbritannien, Deutschland und Italien statt.

**Vamorolone** Vamorolone (früher VBP-15) ist ein nicht-steroidaler Wirkstoff, der von ReveraGen BioPharma entwickelt wurde. Die Hoffnung ist, dass dieser Wirkstoff die positiven Wirkungen von Kortikosteroiden induziert, aber nicht die Nebenwirkungen. Im mdx-Mausmodell wurde dies tatsächlich beobachtet. Eine Phase-1-Studie mit gesunden Probanden wurde abgeschlossen. In den USA wurde eine Phase-2a-Studie an Patienten abgeschlossen. Patienten werden derzeit in einer offenen Phase behandelt. Eine Phase-2b-Studie an Patienten ist in Europa geplant.

### **Edasalonexent**

CAT1004 (Edasalonexent) ist ein von Catabasis entwickeltes entzündungshemmendes Medikament. Es wurde an gesunden

Erwachsenen getestet. Eine zweistufige Phase-1/2-Studie an DMD-Patienten wurde kürzlich abgeschlossen. Edasalonexent war sicher und gut verträglich. Keine entzündungshemmende Wirkung konnte von der MRT festgestellt werden, als Placebo- und Behandlungsgruppen nach 12 Wochen Behandlung verglichen wurden. Alle Jungen wurden dann in die Hochdosisgruppe versetzt. Nach 48-60 Wochen Behandlung scheint die Muskelfunktion im Vergleich zur Progression vor Behandlungsbeginn stabilisiert zu sein. Die Patienten werden noch in einer offenen Phase behandelt. Eine Bestätigungsstudie der Phase 3 ist derzeit in Planung.

### **Deflazacort**

Deflazacort wird in den USA noch nicht vertrieben. Marathon Pharmaceuticals hat in den USA eine offene Studie an DMD-Patienten durchgeführt und die Zulassung für die Behandlung von DMD in den USA durch die FDA erhalten. PTC hat die Rechte an Deflazacort in den USA erworben und vertreibt das Medikament derzeit.

### **Eingestellt:**

#### **Cyclosporin**

**Hintergrund:** Cyclosporin ist ein Medikament, das das Immunsystem unterdrückt. Wenn Muskelgewebe beschädigt ist, wird dies eine Immunantwort hervorrufen (der Körper weiß nicht, was den Schaden verursacht – es könnte auch ein Virus, ein Bakterium usw. sein). Während die Immunantwort die besten Absichten hat (um den Körper vor Infektionen zu schützen), erhöht das Immunsystem in diesem Fall die Pathologie. Immunzellen schütten giftige Substanzen aus (die Bakterien abtöten sollen etc.), was den Muskelschaden weiter erhöht und die Bildung von Narbengewebe verstärkt.

Durch die Unterdrückung des Immunsystems mit Cyclosporin wird der Muskelschaden also weniger schwerwiegend und weniger Narbengewebe wird gebildet. Es wird angenommen, dass es weniger Nebenwirkungen hervorruft als Kortikosteroide.

Klinische Studie: Eine klinische Studie wurde in Deutschland (Rudolf Korinthenberg in Freiburg) durchgeführt, um zu beurteilen, ob die Cyclosporin-Behandlung für Patienten vorteilhaft ist. Leider wurde bei Patienten, die mit und ohne Cyclosporin behandelt wurden, [kein Unterschied beobachtet](#).

## Präparate zur Verringerung der Fibrose

### Idebenon (Catena)

**Ziel:** Die Narbenbildung zu reduzieren.

**Hintergrund:** Durch den Verlust von Dystrophin sind Skelett- und Herzmuskulatur von Duchenne-Patienten unter kontinuierlichem Stress (oxidativer Stress), was noch ein weiterer Prozess ist, der zur Bildung von Narbengewebe führt und auch die Energieproduktion von Muskelfasern durch die Mitochondrien (Stromgeneratoren) beeinträchtigt. Im Muskel führt dies zum Verlust der Muskelfunktion. Im Herzen ergibt sich eine reduzierte Pumpenfunktion (das Herz wird „steifer“). Idebenon hilft den Mitochondrien (Stromerzeuger der Zellen), Energie zu erzeugen. Idebenon (Raxone®) reduziert auch den oxidativen Stress (es ist ein Antioxidans) in Herz- und Skelettmuskulatur, um die Bildung von Narbengewebe zu verhindern. So könnte die Herzpathologie, die bei vielen jugendlichen Patienten beobachtet wird, verzögert oder sogar verhindert werden und die Skelettmuskelqualität sollte länger erhalten werden.

Klinische Studien: Santhera hat Idebenone an Duchenne-Patienten [getestet](#) und gezeigt, dass es sicher ist. Eine [Phase-III-Studie](#) wurde auch durchgeführt, um die Wirksamkeit von Idebenon/Raxone® auf die Lungenfunktion, die motorische Funktion, die Muskelkraft und die Lebensqualität bei Patienten, die keine Kortikosteroide verwenden, zu untersuchen. Die [Ergebnisse zeigen](#), dass Idebenon gut verträglich war und ein langsamerer Abfall der Atemfunktion bei behandelten Patienten im Vergleich zur Placebo-Gruppe beobachtet wurde. Eine Placebo-kontrollierte Phase-3-Studie bei Patienten mit Kortikosteroiden wird [in Kürze initiiert](#). Santhera hat 2016 sowohl um die Zulassung bei der European Medicine Agenturen (EMA) als auch bei der Food and Drug Administration (FDA) angesucht. Die EMA-Evaluierung ist noch ausstehend. Im Juli 2016 hat die [FDA](#) darauf hingewiesen, dass Studienergebnisse von Steroid-behandelten Patienten zum Zeitpunkt der Einreichung

benötigt werden und daher der aktuelle Antrag nicht geprüft werden kann. In den Jahren 2017 und 2018 gab der "Committee for Human Medicinal Products" eine negative Stellungnahme zum Einsatz von Idebenon/Raxone® bei DMD ab.

## **Halofuginon**

**Ziel:** Entzündungen und Fibrose zu reduzieren und die Regeneration zu verbessern.

**Hintergrund:** Halofuginon ist ein Präparat, das der Muskelregeneration hilft, Entzündungen und Fibrose reduziert.

**Herausforderung:** Halofuginon ist nicht sehr gut verträglich (Magen-Darm-Probleme).

**Lösung:** Eine andere Formulierung dieser Verbindung wurde von Akashi Therapeutics hergestellt (HT-100), die besser vertragen wird.

**Klinische Studie:** Eine erste klinische [Studie](#) zur Prüfung der Sicherheit von HT-100 wurde für DMD-Patienten in den USA abgeschlossen. Diese Studie wurde vorübergehend unterbrochen, weil bei Hunden Toxizität bei sehr hohen Dosierungen beobachtet wurde. Doch nach weiteren Tests und Neubewertung der Daten erlaubte die FDA, die Studie weiterzuführen. Vorläufige Ergebnisse deuten darauf hin, dass HT-100 gut vertragen wird. Eine Verbesserung der Muskelkraft gegenüber der Baseline wurde bei den behandelten Patienten beobachtet. Eine Bestätigungsstudie wurde initiiert, aber nach einem Patienten, der an der Studie teilnahm und traurigerweise verstarb, ausgesetzt. Es stellte sich heraus, dass dieser Patient eine viel höhere Dosis HT-100 erhielt als erwartet. Weitere klinische Studien zur Beurteilung der Sicherheit niedrigerer Dosen werden in Betracht gezogen.

## **Andere Präparate zur Verringerung der Fibrose**

Pamrevlumab (früher FG-3019) von FibroGen ist ein Antikörper gegen CTGF, einem Wachstumsfaktor, der bei der Herstellung und dem Erhalt von fibrotischem Gewebe eine Schlüsselrolle spielt. Es wird erwartet, dass FG-3019 die Funktionalität von CTGF hemmt und auf diese Weise die Menge an Fibrosebildung reduziert. Eine klinische Studie zur Untersuchung von FG-3019 bei nicht gehfähigen DMD-Patienten [ist im Gange](#).

Epicatechin ist ein hormonähnliches Molekül, das von den energieerzeugenden Organellen der Zellen (Mitochondrien) während der Bewegung produziert wird. Epicatechin führt zur Produktion von Mitochondrien und verbesserter Geweberegeneration in Tiermodellen und führte zu reduzierter Fibrose in Muskeldystrophie-Modellen. Eine kleine Pilotstudie an Muskeldystrophie-Becker-Patienten war ermutigend und zeigte, dass eine Behandlung mit Epicatechin gut vertragen wurde. Eine Studie an nicht gehfähigen Duchenne-Patienten, koordiniert von Cardero Therapeutics und UC-Davis, ist derzeit im Gange.

Zusätzliche Präparate zur Verringerung der Fibrose werden in präklinischen Studien evaluiert, z.B. MTB-1 von Astellas, das die Funktion und die Anzahl der Mitochondrien verbessern soll.

**Eingestellt:** Pentoxifyllin wurde in einer klinischen Studie getestet, konnte das Fortschreiten der Erkrankung nicht verlangsamen und wurde von den Patienten schlecht vertragen. Flavocoxid ist ein weiteres Antioxidans, das in einer Phase-1-Studie an Duchenne-Patienten getestet wurde, um die Sicherheit zu beurteilen. Eine Studie zur Beurteilung der Sicherheit von Q-10 (einem weiteren Antioxidans) mit und ohne Co-Behandlung durch Lisinopril wird in den USA bei Patienten mit DMD, Becker und Gliedergürteldystrophie durchgeführt (aber nicht mehr rekrutiert).

## Gefäßerweiterung

**Ziel:** Verbesserung der Herz- und/oder Muskelfunktion

**Hintergrund:** Wenn Muskeln kontrahieren, wird Blut aus den Blutgefäßen herausgedrückt, während kontrahierende Muskeln tatsächlich mehr Blut (Sauerstoff und Nährstoffe) benötigen. Zur Kompensation würden sich die Blutgefäße im Muskel normalerweise bei Kontraktion erweitern. Dies wird teilweise durch die Produktion von Stickoxid (NO) durch das nNOS-Synthaseenzym reguliert. Dieses Enzym wird in der Membran des Muskels in Blutgefäßen durch Dystrophin eingerüstet. Ohne Dystrophin ist das nNOS-Synthase-Enzym nicht richtig lokalisiert und somit ist die Fähigkeit, Blutgefäße in Herz und Muskulatur zu erweitern, reduziert. Dies kann zu einer unzureichenden Sauerstoffversorgung von Muskeln und Herz führen, was zu beschädigten Muskel- und Herzzellen führt. Es gibt viele zugelassene Medikamente, die die Erweiterung von Blutgefäßen verbessern können. Die unten angeführten Medikamente

sind bei Duchenne-Patienten in klinischen Studien getestet worden.

## **Lisinopril**

Lisinopril ist ein ACE-Hemmer (ACE ist eine Abkürzung für Angiotensin-umwandelndes Enzym). Das Molekül Angiotensin 2 führt zu einer Verengung von Blutgefäßen. Dieses Molekül wird von Angiotensin 1 durch ACE umgewandelt. Somit wird durch die Hemmung dieser Umwandlung weniger Angiotensin 2 erzeugt, wodurch die Verengung der Blutgefäße verringert wird. Die Wirkung von Lisinopril auf die Herzfunktion wird derzeit an Duchenne-Patienten an Zentren in den USA, Japan und Kanada [getestet](#). Diese Studie prüft auch, ob eine kombinierte Verwendung von Coenzym Q10 (ein Antioxidans) und Lisinopril weitere Vorteile für die Herzmuskel-Funktion hat.

## **Eingestellt:**

### **Revatio (Sildenafil) und Tadalafil**

Revatio® (auch bekannt als Sildenafil oder Viagra) und Tadalafil sind PDE5-Inhibitoren. Wenn NO produziert wird, führt dies zu einer Kaskade von Reaktionen, die zur Erweiterung von Blutgefäßen führen. PDE-Enzyme zielen auf Verbindungen ab, die während dieser Kaskade produziert werden und arbeiten der Erweiterung des Blutgefäßes entgegen. Die Hemmung von PDE-Enzymen führt zu einer verlängerten Wirkung der Erweiterung.

**Klinische Studien:** Revatio wurde in einer klinischen Studie an DMD- und BMD-Patienten in Baltimore (MD, USA) [getestet](#). Allerdings ist diese Studie ausgesetzt worden, da die Ergebnisse zeigten, dass ein Vorteil für die erwachsene DMD-Herz- und Muskel-Funktion durch Revatio unwahrscheinlich ist, während es ein mögliches Risiko für Herzkomplicationen gab.

Basierend auf den ermutigenden Ergebnissen einer Pilotstudie mit Tadalafil, die an einer kleinen Gruppe von DMD-Patienten von Ron Victor durchgeführt wurde, begann Eli Lilly eine doppelblinde Placebo-kontrollierte [Studie](#) an 330 DMD-Patienten. Leider zeigten die Ergebnisse keine Hinweise auf die Wirksamkeit von Tadalafil bei der Verlangsamung der Progression der Krankheit, weder in der gesamten Gruppe noch in Untergruppen. Von daher wurden weiterführende Studien gestoppt. Eli Lilly hat darauf hingewiesen, dass sie bereit sind, die in dieser Studie gewonnenen Daten mit der DMD-Gemeinschaft zu teilen,



um die klinische Entwicklung anderer therapeutischer Produkte zu unterstützen.

### **Andere Präparate zur Erweiterung von Blutgefäßen**

Spironolacton und Eplerenon haben ermutigende Ergebnisse in Mausmodellen gezeigt, wo die Behandlung Herzinsuffizienz verhindern konnte. Diese Präparate werden nun in einer [klinischen Studie](#) an DMD-Patienten getestet. Die Studie ist nun vollständig rekrutiert. Die Ergebnisse werden für 2018 erwartet.

### **Medikamente zur Verbesserung der Muskelmasse und -qualität**

#### **Myostatin-Hemmung**

**Ziel:** Die Steigerung der Muskelmasse durch die Verringerung des Spiegels des Muskelwachstumshemmers Myostatin und verwandten Faktoren.

**Hintergrund:** Es gibt Faktoren, die die Bildung von Muskeln erhöhen und Faktoren, die die Muskelbildung hemmen (nicht alle Gewebe sollten Muskel sein und weil Muskeln viel Energie benötigen, sollten sie nicht größer als notwendig sein). Myostatin ist einer der Hauptfaktoren, die das Muskelwachstum hemmen (es senkt die Volumeneinstellung vieler muskelbezogener Gene), aber es gibt verwandte Proteine mit ähnlichen Funktionen. Myostatin und verwandte Proteine binden an „Rezeptoren“ an den Muskelzellen. Die Bindung ist ein Signal für die Muskelfaser, das Wachstum zu stoppen (z.B. wird das Volumen der muskelbezogenen Gene abgelehnt, so dass weniger Muskelproteine hergestellt werden). Wenn das Gen für das Myostatin-Protein mutiert ist und kein Myostatin hergestellt wird, führt dies zu einer erhöhten Muskelbildung bei Tieren (Weißblaue-Belgier-Rinder, Texel-Schafe, Windhunde, Mäuse) und Menschen. Diese Beobachtung führte dazu, dass die Myostatin-Hemmung als eine Möglichkeit zur Verbesserung der Muskelmasse für Duchenne-Patienten vorgeschlagen wurde, d.h. wenn es möglich ist, Myostatin daran zu hindern, seinen Job zu machen, sollte dies die Muskelbildung verbessern und den Verlust von Muskelgewebe bei Duchenne-Patienten kompensieren. Die Myostatinhemmung kann durch Antikörper für Myostatin erreicht werden. Diese Antikörper binden an Myostatin und hindern es daran, die Gen-Schalter zu erreichen und das Volumen herunterzudrehen. Dasselbe kann durch die Herstellung eines löslichen Rezeptors für Myostatin erreicht werden. Diese binden an Myostatin, aber weil sie löslich sind, gibt es keine Weiterleitung des Signals. Gleichzeitig wird

die Bindung an die löslichen Rezeptoren verhindern, dass das Myostatin an die muskelgebundenen Rezeptoren bindet.

**Klinische Studien:** Myostatin-Antikörper wurden an gesunden Probanden [getestet](#) und als sicher angesehen. Sie wurden fortlaufend an erwachsenen Patienten mit Muskelerkrankungen [getestet](#). Obwohl die Behandlung sicher war, führte sie nicht zu einer Erhöhung der Muskelmasse bei den Patienten. Allerdings wurden die Patienten nur für 28 Tage behandelt, was möglicherweise nicht lange genug war.

Eine neue Studie zum [Testen](#) eines Myostatin-Antikörpers (PF06252616, Domagrozumab von Pfizer) wurde an gesunden Probanden abgeschlossen. [Eine Phase-2-Studie](#), um diese drei verschiedenen Antikörper-Dosierungen an Duchenne-Patienten zu testen, ist im Gange. Die Patienten werden für 96 Wochen behandelt und erhalten den Antikörper für die ersten oder die letzten 48 Wochen oder für 96 Wochen.

Bristol-Meyers-Squibb hat ein weiteres Myostatin-Antikörper-ähnliches Medikament namens BMS-986089 (Adnectin) entwickelt. Die Entwicklung von Adnectin wurde nun von Roche übernommen. Der Wirkstoff wurde an gesunden Probanden getestet und gut vertragen. Eine Studie zur Beurteilung der Sicherheit wurde mit gehfähigen Duchenne-Patienten in den USA und Kanada vollständig rekrutiert. Eine globale Folgestudie zur Beurteilung von Sicherheit und Wirksamkeit läuft und wird derzeit rekrutiert.

**Eingestellt:** Die Firma Acceleron (jetzt übernommen von Shire) hat einen löslichen Myostatinrezeptor (ACE-031) hervorgebracht, der die Myostatin-Antikörper in Duchenne-Mausmodellen übertraf, wahrscheinlich weil er zusätzlich zu Myostatin auch andere Faktoren binden kann, die die Muskelgröße reduzieren. Dieser lösliche Rezeptor wurde [an gesunden Probanden getestet](#). Dies war gut verträglich und führte zu einer erhöhten Muskelmasse in einer dosisabhängigen Weise, mit einer Zunahme von ~1 kg für die höchste Dosis in einem Zeitraum von 2 Wochen. Eine Dosisescalations-Sicherheitsstudie mit ACE-031 bei Duchenne-Patienten wurde [beendet](#), da einige Patienten an unerklärlichem Nasen- und Zahnfleischbluten litten. Die wahrscheinlichste Erklärung ist, dass der lösliche Rezeptor andere Signalpeptide zusätzlich zu Myostatin binden kann (d.h. er ist weniger spezifisch als die oben beschriebenen Myostatin-Antikörper). Zusätzliche Tests in Tiermodellen wurden durchgeführt und leider haben die Ergebnisse keine weitere Entwicklung dieses Präparats unterstützt.

## Follistatin-Genzufuhr

**Ziel:** Die Muskelmasse zu erhöhen, indem man den Muskelwachstumshemmer Myostatin antagonisiert.

**Hintergrund:** Follistatin ist ein Protein, das Myostatin hemmt. Wie oben beschrieben, ist Myostatin ein Protein, das das Muskelwachstum hemmt. So wird durch Erhöhung der Follistatin-Gehalte der Inhibitor gehemmt, was zu einer Erhöhung der Muskelmasse führen wird. Das Follistatin-Gen wurde Mäusen und Affen unter Verwendung eines AAV-Virusvektors zugeführt (siehe Gentherapie für weitere Details über die Herausforderungen und Perspektiven der Gentherapie). Die Injektionen führten zu einer Erhöhung der Muskelmasse und der Muskelkraft.

**Klinische Studien:** Eine klinische Studie, bei der AAV-Virusvektoren mit dem Follistatin-Gen im Quadrizeps von Becker-Patienten injiziert werden, [läuft](#) im Nationwide Children's Hospital (Columbus Ohio). Das Ziel ist zu untersuchen, ob dies sicher ist und ob es die Quadriceps-Muskelmasse und -stärke verbessern kann. In einer Folgestudie wird dieser Ansatz nun auch bei Duchenne-Patienten untersucht.

## Weitere Möglichkeiten zur Erhöhung der Muskelkraft

Tamoxifen ist ein anerkanntes Medikament zur Behandlung von Östrogen-abhängigem Brustkrebs. Studien von Urs Rugg und Olivier Dorchies in Genf an *mdx*-Mäusen haben gezeigt, dass die Tamoxifen-Behandlung die Muskelkraft und -qualität verbessert. Basierend auf diesem Ergebnis ist eine klinische Studie an DMD-Patienten in Vorbereitung.

## Alternative Möglichkeiten zur Verbesserung der Muskelqualität: HDAC-Hemmung

Unser Körper besteht aus Proteinen. Die meisten dieser Proteine werden von unseren eigenen Zellen hergestellt, unter Verwendung von Genen als genetische Blaupause (oder ein Rezept) für die Proteinproduktion. Jede Zelle enthält eine Kopie aller Gene und könnte in der Theorie also alle Proteine produzieren. Allerdings produzieren Muskelzellen nur Proteine, die im Muskel benötigt werden und z.B. Leberzellen werden nur Proteine produzieren, die in der Leber benötigt werden. Menschen haben 20.000 Gene, aber in der Regel wird nur eine Teilmenge in jedem gegebenen Gewebe verwendet. Um den Prozess zu erleichtern, wird eine Zelle die Gene markieren, die sie oft verwendet (wie die Verwendung einer Haftnotiz in einem

Rezeptbuch für ein Lieblingsrezept), aber auch Gene, die nicht verwendet werden.

Weil die im Muskel produzierten Proteine sich von den im Narbengewebe produzierten Proteinen unterscheiden, unterscheiden sich auch die Gene, die als „verwendet“ und „nicht verwendet“ markiert werden, zwischen diesen Geweben. Dies bedeutet, dass sich, sobald Muskelgewebe fibrotisch wird, die Art und Weise, wie Gene markiert werden, auch ändern wird, was zu einer weiteren Tendenz des Muskels führt, fibrotisch zu werden (da es für die Zelle schwieriger ist, die Muskelgene zu finden, während die fibrotischen Gene hervorgehoben werden).

HDAC-Hemmer sind Präparate, die dieses System „zurücksetzen“ können, wodurch die Markierungen von fibrotischen Genen entfernt und auch die „nicht verwendeten“ Marker für Muskelgene gereinigt werden. In der *mdx*-Mausmodell-Behandlung mit HDAC-Hemmern verbesserte sich die Regeneration und Muskelqualität und verringerte sich die Bildung von Fibrose.

Klinische Studien: Givinostat ist ein HDAC-Hemmer, der bei Kindern als sicher befunden wurde und an DMD-Patienten in einer [Studie](#) in Italien von Italpharmaco getestet wurde. Die Ergebnisse der ersten kleinen Studie zeigten, dass die Behandlung für ein Jahr gut vertragen wurde. Bei einer kleinen Anzahl von Patienten wurde bereits kurz nach Behandlungsbeginn ein Rückgang der Thrombozytenzahl beobachtet. Die Analyse von Muskelbiopsien ergab eine Reduktion von Fibrose, Nekrose und Fett beim Vergleich von Biopsien vor und nach der Behandlung. Derzeit läuft eine erweiterte offene Studie. Eine internationale Phase-3-Studie zur Prüfung der Wirksamkeit bei gehfähigen DMD-Patienten wird derzeit rekrutiert.

## Normalisierung der Kalziumhomöostase

**Rationale:** Aufgrund des Mangels an Dystrophin ist der Kalziumkanal in den Muskelfasern undicht. Dies führt zu abnormen Kalziumspiegeln im Muskel, was zu Muskelschäden, oxidativem Stress und Fibrose führt. Präparate, die „Rycalls“ genannt werden, können die Kalziumbilanz normalisieren, weil sie das Leck korrigieren können. Bei *mdx*-Mäusen war die Rycall-Behandlung von Vorteil. Vorbereitungen für eine klinische Studie bei DMD-Patienten laufen von Servier. Ein weiteres potentiell Medikament, das die Kalziumspiegel in Muskelfasern normalisieren kann, ist Remeporid (von Esperare). Eine Phase-1-

Studie mit DMD-Patienten wurde abgeschlossen und zeigte eine gute Verträglichkeit von Remiporid. Esperare plant derzeit eine Phase-2-Studie, um dieses Medikament weiterhin an DMD-Patienten zu testen.

## Utrophin-Hochregulation

**Ziel:** Den Spiegel des Dystrophin-Homologs Utrophin im Muskel zu erhöhen.

**Hintergrund:** Utrophin ist ein Protein, das dem Dystrophin sehr ähnlich ist und die gleiche Verbindung zwischen Zellskelett und Bindegewebe bildet wie Dystrophin, aber vor allem in Nicht-Muskelgeweben. Während der Muskelentwicklung oder -regeneration befindet sich Utrophin an der Membran der Muskelfasern. Wenn jedoch die Dystrophinproduktion eingeleitet wird, ersetzt Dystrophin das Utrophin. Bei erwachsenen Muskeln wird Utrophin in sehr niedrigen Mengen exprimiert und ist hauptsächlich am Übergang von Nerven zum Muskel (neuromuskuläre Verbindung) lokalisiert. Jedoch wird bei Duchenne-Patienten und Tiermodellen auch Utrophin an der Muskelfasermembran exprimiert. Bei Patienten sind diese erhöhten Werte noch zu niedrig, um einen Vorteil zu bringen. Maus-Studien haben gezeigt, dass höhere Mengen von Utrophin den Mangel an Dystrophin funktionell kompensieren und die Krankheitsprogression verzögern können.

Gene haben einen Mengenschalter, der durch spezielle Proteine reguliert wird, die ein Gen ausschalten können, oder es in verschiedenen Geweben auf niedrig oder hoch setzen können (was entweder zu niedrigen oder hohen Proteingehalten führt). Der Utrophin-Genschalter ist im Muskel auf eine sehr geringe Menge eingestellt. Tausende von Medikamenten werden gescreent, um diejenigen zu finden, die die Menge des Utrophin-Gens erhöhen können.

**Klinische Studien:** Medikamente zur Verbesserung der Utrophin-Expression in kultivierten Zellen und Tiermodellen wurden von Summit PLC (John Tinsley und Kay Davies, UK) und BioMarin Pharmaceutical Inc. identifiziert. BioMarin hat [eine klinische Phase-1-Studie](#) abgeschlossen, bei der die BMN-195-Verbindung an gesunden Probanden getestet wurde ([siehe Pressemitteilung](#)). Leider wurde die Menge an BMN-195, die ins Blut der Freiwilligen gelangte, als zu niedrig angesehen, um zu einer Utrophin-Hochregulierung zu führen. BioMarin hat deshalb die Weiterentwicklung dieses Präparats gestoppt. Mittlerweile hat Summit eine optimierte Formulierung der BMN-195-Substanz (heute SMT C1100 oder Ezutromid genannt) produziert, die eine verbesserte Aufnahme ermöglichen sollte.

**Klinische Studien 2:** Summit hat die neue Formulierung an gesunden Probanden getestet und beobachtet, dass die Aufnahme ausreichte, um die Utrophin-Hochregulation bei Einnahme mit einer Mahlzeit zu ermöglichen. Diese Formulierung wurde an DMD-Patienten in drei verschiedenen Dosierungen getestet und die Aufnahme führte zu einem ausreichenden Blutspiegel bei zwei der 12 Patienten. [Eine Follow-up-Studie](#) wurde durchgeführt, in der die Formulierung mit einer fettreichen Mahlzeit getestet wurde. Dies verbesserte die Aufnahme mit 6/12 Duchenne-Patienten, die Medikamentenspiegel hatten, von denen erwartet wird, die Utrophin-Expression um 30-50 %, basierend auf Maus-Daten, zu erhöhen. Eine Phase-2-Studie zur Beurteilung der Wirksamkeit bei gehfähigen Duchenne-Patienten ist derzeit in Großbritannien und den USA [im Gange](#). Für eine Zwischenauswertung wurde nach 24 Wochen Behandlung eine Biopsie durchgeführt, die einen Anstieg des Utrophinspiegels um 7 % ergab. Eine Phase-3-Bestätigungsstudie ist in Vorbereitung.

### **Weitere Möglichkeiten zur Verbesserung der Utrophinspiegel**

Zusätzliche Ansätze zur Verbesserung der Utrophinspiegel sind in der präklinischen Phase. Biglycan von Tivorsan zielt darauf ab, sowohl Utrophin als auch nNOS zu erhöhen. Laminin-111 von Prothelia zielt darauf ab, Utrophin und Integrin zu erhöhen (ein anderes Protein, das Muskelfasern mit Bindegewebe verbindet und somit Stabilität bietet).

### **Mutationsspezifische Ansätze**

Das Überspringen von Exons (Exon-Skipping) und das Stopcodon-Überlesen sind mutationsspezifische therapeutische Ansätze. Dies bedeutet, dass sie nur für Untergruppen von Patienten funktionieren, die spezifische Mutationen haben (siehe die folgenden Seiten für weitere Informationen). Um zu wissen, ob ein Duchenne-Patient für das Exon-Skipping oder das Stopcodon-Überlesen geeignet ist, ist es wichtig, eine vollständige genetische Diagnose der Erkrankung zu haben (d.h. die Krankheit, die eine Mutation im Dystrophin-Gen verursacht, muss identifiziert werden).

#### **Überspringen von Exons (Exon-Skipping)**

**Ziel:** Den genetischen Code zu korrigieren und die Produktion eines partiell funktionellen Dystrophins zu ermöglichen.

**Hintergrund:** Der genetische Code der Gene ist über so genannte Exons verteilt. Wenn ein Protein hergestellt werden muss, machen die Gene eine temporäre Kopie (genannt RNS). Bevor diese RNS in ein Protein übersetzt werden kann, müssen die Exons zuerst verbunden werden und die intermittierenden Stücke,

die den genetischen Code (Introns) nicht enthalten, müssen entfernt werden. Dies ist ein Prozess, der als „Spleißen“ bezeichnet wird.

Bei Duchenne-Patienten wird der genetische Code des Dystrophin-Gens unterbrochen, was bedeutet, dass der Code unleserlich wird, was zu einem vorzeitigen Abbruch der Übersetzung von Gen in Protein führt. Bei Becker-Patienten erhalten Mutationen den genetischen Code aufrecht, so dass ein Protein gebildet werden kann, das die funktionalen Domänen behält.

Das Überspringen von Exons zielt darauf ab, den genetischen Code von Duchenne-Patienten wiederherzustellen, so dass ein teilweise funktionelles, Becker-ähnliches Dystrophin-Protein hergestellt werden kann, anstelle eines nicht-funktionellen Duchenne-Proteins. Dies wird durch AONs (Antisense-Oligonukleotide) erreicht. AONs sind kleine Stücke von modifizierter RNS, die ein Zielexon erkennen, daran binden und es vor der Spleiß-Maschinerie verstecken. Dies führt zu dem Überspringen des genannten Exons und der Wiederherstellung des genetischen Codes.

[Annemieke Aartsma-Rus erklärt das Exon-Skipping in diesem Film.](#)

Das Überspringen von Exons wird auch in diesem [„Tanze deinen Dokortitel“](#)-Video erklärt.

Die AON-Behandlung hat das Überspringen von Exons induziert, was zur Produktion von Becker-artigen Dystrophinen in von Patienten abgeleiteten, kultivierten Zellen und dem *mdx*-Mausmodell führt. Im Mausmodell wurde dies von einer funktionellen Verbesserung begleitet.

Es gibt verschiedene Typen von AONs (chemische Zusammensetzung).

Anwendungsmöglichkeiten: [Für verschiedene Mutationen und Typen von Mutationen müssen verschiedene Exons übersprungen werden, um den genetischen Code wiederherzustellen.](#) Da die meisten Patienten eine Löschung haben und diese Cluster in einem Hotspot sind, trifft das Überspringen einiger Exons für mehr Patienten zu als für andere. Eine Bilddarstellung der Exons im Dystrophin-Gen steht [hier](#) zur Verfügung. Eine viel umfassendere Diskussion über Exon-Skipping,

einschließlich Bilder, die helfen, die Funktionsweise zu visualisieren, ist [hier](#) verfügbar.

Während das Überspringen von Exons vorteilhaft für die Mehrheit der Mutationen wäre, gibt es einige Ausnahmen.

Exon 51 skipping Da Exon-51-Skipping für die größte Patientengruppe gilt, wurden AONs, die auf Exon 51 abzielen, am weitesten entwickelt. Ein exon-überspringendes AON der Morpholino (PMO)-Chemie namens Eteplirsen hat von der FDA eine beschleunigte Zulassung erhalten. Bewertung durch die EMA steht noch aus.

Klinische Studien mit Eteplirsen Das PMO-AON, das auf Exon 51 abzielt, heißt derzeit Eteplirsen oder Exondys 51. Es muss durch eine intravenöse Infusion verabreicht werden. Eteplirsen wurde an 19 Patienten in verschiedenen Dosen bis zu 20 mg/kg [getestet](#). Da nicht alle Patienten in dieser Studie gleich gut reagierten, wurde eine Folgestudie mit zwei höheren Dosen in einer kleinen Studie mit 12 Patienten [durchgeführt](#). In dieser Studie wurde Dystrophin für alle Patienten nach 24 Wochen Behandlung mit Eteplirsen wiederhergestellt. Die Patienten werden nun seit über 188 Wochen behandelt und für die 10 Patienten, die noch gehfähig sind, ist die 6-minütige Gehzeit geringer als das, was man naturgemäß erwarten würde (obwohl dies angesichts der kleinen Gruppengröße mit Vorsicht zu interpretieren ist).

[Eine Phase-3-Studie](#) in der die wöchentliche intravenöse Dosierung mit 30 mg/kg Eteplirsen für 96 Wochen an gehfähigen Patienten getestet wird, läuft derzeit in den USA. Hierbei handelt es sich um eine offene Studie, in der Patienten mit Mutationen behandelt werden, die für Exon-51-Skipping empfänglich sind, während Patienten mit nicht veränderbaren Mutationen als Kontrollen für Funktionsprüfungen und Sicherheit verwendet werden. Darüber hinaus wurden in den USA offene Studien an [jungen Patienten](#) (unter 6 Jahren) und an Patienten mit [eingeschränkter](#) oder [fehlender Gehfähigkeit](#) durchgeführt. In der Studie an jungen Patienten wird wiederum eine Gruppe mit nicht



veränderbaren Mutationen als Kontrolle verwendet.

Andere exon 51  
skipping Studien:

Die FDA gab am 19. September 2016 bekannt, dass Eteplirsen eine beschleunigte Zulassung erhalten hat. Dies basierte nur auf einem geringen Anstieg des Dystrophins, der bei den Muskelbiopsien behandelter Patienten beobachtet wurde. Die FDA hat ausdrücklich festgelegt, dass funktionelle Effekte noch nicht bestätigt sind. Daher muss Sarepta den klinischen Nutzen in weiteren klinischen Studien bestätigen, die derzeit laufen und geplant sind. Im Dezember 2016 beantragte Sarepta die Zulassung bei der Europäischen Arzneimittelagentur. Die Evaluierung steht derzeit noch aus.

Eteplirsen induziert nur einen geringen Anstieg der Dystrophin-Expression. Es gibt also Raum für verbesserte AON-Verbindungen. Sarepta testet derzeit eine Form von Eteplirsen, die mit einem Peptid-Konjugat verbunden ist, das die AON-Aufnahme durch das Gewebe verbessern soll (ein sogenanntes pPMO). Darüber hinaus hat Wave Therapeutics eine Exon-51-Skipping-Studie mit einer neuen AON-Modifikation gestartet.

Klinische Studien mit Drisapersen **(eingestellt)**: Das 2OMePS-AON, das auf Exon 51 abzielt, wird derzeit Drisapersen oder Kyndrisa genannt. Alle Patienten, die an einer frühen subkutanen Studie beteiligt waren, wurden in eine offene Erweiterungsstudie eingeschlossen, in der sie eine wöchentliche Behandlung mit Drisapersen erhalten. Die Patienten wurden während mehr als 6 Jahren behandelt (einschließlich Behandlungspausen). Für 8/10 Patienten, die zu Beginn der Erweiterungsstudie noch bewegungsfähig waren, hat sich die 6-Minuten-Gehdistanz stabilisiert, während der natürliche Verlauf eine Abnahme vorhersagen würde. Allerdings fehlt eine Placebo-Gruppe, weshalb diese Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert werden sollten.

GlaxoSmithKline (GSK) hat Drisapersen von Prosensa in Lizenzierung und mehrere Studien koordiniert. In allen Studien mit subkutaner Injektion von Drisapersen wurden Reaktionen an der Injektionsstelle und Proteinurie häufiger bei den mit Drisapersen behandelten Patienten als bei den mit Placebo behandelten Patienten

beobachtet. Eine Studie, die verschiedene [Dosierungsschemata](#) vergleicht, wurde bei Patienten, die in einem relativ frühen Stadium der Erkrankung waren, abgeschlossen. Diese Studie umfasste 54 Patienten, die entweder Placebo, eine wöchentliche subkutane Behandlung mit Drisapersen oder ein intermittierendes Regime für 48 Wochen erhielten. Beide Behandlungsgruppen gingen ~35 Meter mehr als mit Placebo behandelte Patienten in dem 6-Minuten-Gehtest.

Eine Studie, die verschiedene Dosierungen vergleicht, wurde bei Patienten, die in einem frühen Krankheitsstadium waren (fähig, vom Boden in 15 Sekunden aufzustehen) abgeschlossen. Die Patienten erhielten Placebo, 3 oder 6 mg/kg Drisapersen für 24 Wochen. Patienten, die mit 6 mg/kg behandelt wurden, gingen nach 24 Wochen 27 Meter mehr als Patienten, die mit Placebo oder 3 mg/kg behandelt wurden.

Im Jahr 2011 wurde [eine Placebo-kontrollierte Phase-III-Studie](#) initiiert, um die Sicherheit und Wirksamkeit der Behandlung mit Drisapersen bei 186 gehfähigen Patienten zu beurteilen. Nach 48 Wochen wurde kein signifikanter Unterschied in der Entfernung, die in 6 Minuten gegangen wurde, zwischen Placebo- und Drisapersen-behandelten Patienten beobachtet. Mittlerweile hat GSK die Lizenz zur Entwicklung von Drisapersen an Prosensa zurückgegeben und Prosensa wurde von BioMarin erworben.

Prosensa/Biomarin hat die kompilierten Daten der systemischen Studien und Erweiterungsstudien analysiert. Die Ergebnisse deuten auf ein langsames Fortschreiten der Erkrankung bei behandelten jüngeren Patienten hin, aber auch für ältere Patienten, die seit 24 Monaten behandelt wurden. Auf der Grundlage dieser Daten haben sie im Jahr 2015 um eine [beschleunigte Zulassung bei der Food and Drug Administration](#) und um die [Zulassung bei der Europäischen Arzneimittelagentur](#) angesucht. Darüber hinaus haben sie die stufenweise Reduzierung von Patienten in offenen Erweiterungsstudien mit Drisapersen (die nach dem Bericht der Phase-III-Studienergebnisse gestoppt wurden) begonnen. Die FDA [berichtete](#) am 14. Januar 2016, dass Drisapersen derzeit nicht zur Zulassung bereit ist.

Am 31. Mai 2016 [kündigte BioMarin](#) die Zurücknahme ihres Antrags auf Zulassung bei der EMA an. Sie haben die

Entwicklung von Drisapersen und anderen AONs, die sich in der klinischen Entwicklung befanden und auf Exon 44, 45 und 53 abzielten, eingestellt. Derzeit arbeiten sie an der Entwicklung effektiverer und sicherer Exon-Skipping-Verbindungen.

Herausforderung: AONs, um verschiedene Exons zu überspringen, werden von den Regulierungsbehörden als unterschiedliche Medikamente betrachtet. Dies bedeutet, dass die Entwicklung von AONs für verschiedene Exons sehr kostspielig und zeitaufwendig ist, da jedes durch alle Stadien der präklinischen und klinischen Entwicklung gehen muss.

Hoffentlich wird die AON-Entwicklung nach den ersten zwei oder drei schneller werden. TREAT-NMD koordiniert eine Diskussion darüber mit Regulierungsbehörden im Auftrag von Exon-Skipping-Wissenschaftlern, Klinikern und Industrie und der Patientengemeinschaft. [Die jüngste Sitzung fand am 29. April 2015 statt.](#) Die daraus resultierende [Publikation](#) steht ab sofort zur Verfügung ([eine kostenlose Kopie kann hier gefunden werden](#)).

Klinische Entwicklung von AONs, die auf andere Exons abzielen: Sarepta hat eine Phase-1/2-Studie für PMOs [abgeschlossen, die auf Exon 53 abzielen](#), (Golodirsens, Zusammenarbeit mit Francesco Muntoni in London). Nach 48 Wochen Behandlung wurde ein Anstieg der Dystrophin-Expression von ~1 % beobachtet. Auf dieser Grundlage wird Sarepta im vierten Quartal 2018 die FDA-Zulassung für Golodirsens beantragen.

Nippon Shinyaku (Japan) führt derzeit eine [klinische Studie](#) mit PMOs für Exon-53-Skipping in Japan durch. Eine placebo-kontrollierte Sicherheits- und Dosisfindungsstudie, gefolgt von einer offenen Phase mit diesem Präparat, findet [derzeit](#) an gehfähigen Patienten in den USA statt. Nippon Shinyaku evaluiert auch und mit AONs mit der [ENA chemistry](#) für Exon 45 in Japan.

## Medikamente zur Stopcodon-Überlesung

### Ataluren und Gentamicin

Anwendung: Diese Medikamente funktionieren nur für Patienten mit einer „Stop-Signal“-Mutation. Diese Mutationen beeinflussen nicht den genetischen Code, sondern führen ein Stoppsignal in der

Mitte des Gens zusätzlich zu dem am Ende des Gens ein, was bedeutet, dass die Proteinübersetzung vollständig ist. Dies ist der Fall für ~10-15 % der Duchenne-Patienten. Die Arzneimittel können auch für Personen mit Stopcodons in anderen Genen (z.B. zystische Fibrosepatienten) vorteilhaft sein.

**Ziel:** Die Zelle zwingen, das mutierte Stopcodon zu ignorieren und ein vollständiges Dystrophinprotein zu produzieren.

**Hintergrund:** Alle Gene haben ein Start- und ein Stoppsignal, so dass die Maschinerie, die Gene in Proteine übersetzt, weiß, wo sie anfangen und wo sie enden muss. Manchmal kann eine kleine Mutation ein Stoppsignal innerhalb des Gens einführen (zusätzlich zu dem am Ende). Normale Stoppsignale unterscheiden sich in der Regel geringfügig von diesen mutierten Stoppsignalen (vergleichbar mit einem Stoppsignal an einer vielbefahrenen Kreuzung (normales Stoppsignal) und einem auf einer Autobahn (mutiertes Stoppsignal)). Dennoch wird die Zelle dem Stoppsignal folgen und wird die Übersetzung des Proteins vorzeitig beenden. Es gibt Medikamente, die die Verwendung dieser mutierten Stopcodons unterdrücken, während sie die normalen Stopcodons nicht beeinflussen. Das erste Arzneimittel, das gezeigt hat, dies in kultivierten Zellen und Duchenne-Mausmodellen zu machen, war Gentamicin (ein Antibiotikum der Aminoglykosid-Klasse).

**Klinische Studien:** Gentamicin [wurde](#) an Duchenne-Patienten [getestet](#), hat aber niemals überzeugend die Wiederherstellung von Dystrophin gezeigt.

**Herausforderung 1:** Zusätzlich zu seiner geringen Wirksamkeit ist Gentamicin bei Langzeitverwendung toxisch (es kann die Ohren und die Nieren schädigen).

**Lösung 1:** Das Screening einer großen Anzahl von Arzneimitteln führte zur Identifizierung eines Medikaments, das auch in der Lage war, Zellen zu zwingen, mutierte Stopcodons zu ignorieren, ohne die toxischen Nebenwirkungen. Dieses Medikament wird [PTC124](#) oder [Ataluren](#) oder Translarna™ genannt und wird von PTC Therapeutics (USA) entwickelt. Es kann oral eingenommen werden und führte zu einer Dystrophin-Wiederherstellung in kultivierten Zellen und dem *mdx*-Mausmodell.

**Klinische Studien:** Ataluren war bei gesunden Probanden sicher. Ein [erste Studie](#) an Duchenne-Patienten, in der Patienten mit verschiedenen täglichen Dosen von Ataluren für 4 Wochen behandelt wurden, [zeigte](#), dass die Behandlung gut verträglich war und

dass die Dystrophin-Expression bei behandelte Patienten gesteigert wurde. [Studien zur Überprüfung](#), ob dies auch zu einer funktionalen Verbesserung in längeren klinischen Studien führt, wurden in mehreren Zentren in den USA und Europa durchgeführt.

Unglücklicherweise führte die Behandlung nicht überzeugend zu einer funktionellen Verbesserung im Vergleich zu Placebo-behandelten Patienten bei einem 6-minütigen Gehstest und daher wurden die Studien [auf Eis](#) gelegt. Patienten, die an diesen Studien in den [USA](#) und Europa beteiligt sind, können sich für [eine offene Studie](#) anmelden.

Nach detaillierter [Analyse der Daten](#) und weiterer Optimierung der Dosierung wurde in Nord- und Südamerika, Asien, Australien und Europa eine neue bestätigende Phase-3-Studie an 220 DMD-Patienten [abgeschlossen](#). Translarna-behandelte Patienten gingen im Durchschnitt 15 Meter mehr in 6 Minuten im Vergleich zu Placebo-behandelten Patienten. In der vorab definierten Untergruppe der Patienten (zu Beginn der Studie zwischen 300 und 400 Metern in 600 Metern gehend) gingen die mit Translarna behandelten Patienten 47 Meter weiter als die mit Placebo behandelten Patienten. Translarna-behandelte Patienten schnitten auch besser in anderen Funktionstests ab. Wie zuvor wurde Translarna gut vertragen.

PTC hat im Januar 2016 die beschleunigte Zulassung bei der Food and Drug Administration (USA) beantragt. Die FDA schickte im Februar 2016 ein [Ablehnungsschreiben](#) an PTC, in dem sie ankündigte, dass die aktuellen Daten nicht ausreichen, um eine Überprüfung durch die FDA zu ermöglichen. PTC hat dagegen Berufung eingelegt und die [FDA hat nun eine Sitzung](#) des Beratungsausschusses anberaumt, die am 28. September 2017 stattfinden wird.

Marktzulassung: PTC Therapeutics erhielt von der Europäischen Kommission im August 2014 eine Zulassung für Translarna (Ataluren, früher bekannt als PTC124). Translarna ist in EMA-Ländern für die Behandlung von gehfähigen Patienten im Alter von fünf Jahren und älter zugelassen, deren Duchenne-Muskeldystrophie durch eine Nonsense-Mutation im Dystrophin-Gen verursacht wird.

Die bedingte Zulassung wird jährlich ausgewertet und wurde im Jahr 2015 und erneut im November 2016 verlängert, als die Daten der ersten Bestätigungsstudie zur Verfügung standen. Im November 2016 forderte die EMA eine zusätzliche

## Bestätigungsstudie von PTC.

Innerhalb der Europäischen Union ist Translarna derzeit in Deutschland, Österreich, Dänemark Norwegen und Großbritannien verfügbar, wobei Frankreich, Italien und Griechenland Schemata für einen frühzeitigen Zugang haben. Außerhalb Europas hat Translarna die Zulassung für die Verwendung in Israel erhalten und ist auch in der Türkei, Brasilien und Kolumbien erhältlich. Diese Liste der Länder wird ansteigen und die Verfügbarkeit von Translarna sollte mit PTC ([medinfo@ptcbio.com](mailto:medinfo@ptcbio.com)) überprüft werden.