

Forschungsübersicht

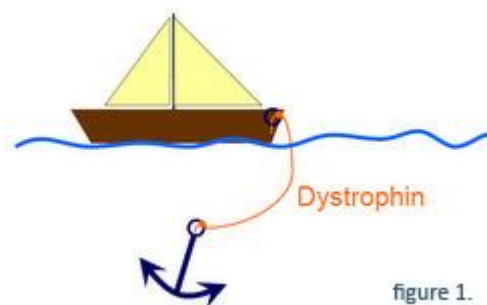
Ziel dieser Übersicht ist es, Patienten und Eltern über die derzeit in Forschung stehenden, verschiedenen therapeutischen Ansätze bei Muskeldystrophie Duchenne zu informieren, die Vor- und Nachteile jedes Ansatzes zu beschreiben und die Hürden aufzuzählen, die überwunden werden müssen, bevor diese Ansätze 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.

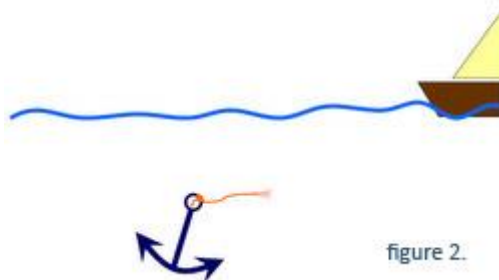
Diese Übersicht wurde zuletzt im Februar 2017 aktualisiert.

Das Problem

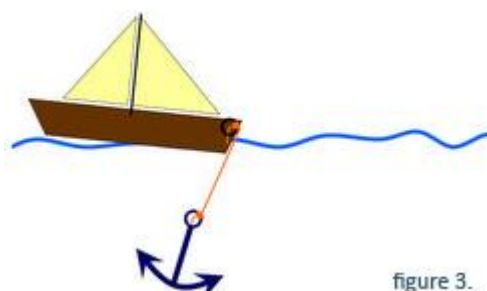
Die Muskeldystrophie Duchenne wird durch Mutationen (genetische Fehler) verursacht, die den genetischen Code des Dystrophin-Gens unterbrechen. Dieses Gen wird normalerweise durch Muskelzellen in das Dystrophin-Protein übersetzt. Das Dystrophin-Protein verbindet das Skelett der Muskelfasern mit der Schutzschicht auf der Außenseite der Fasern. 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 die Muskelzelle nur den Anfang des Proteins produzieren, die Verbindungsfunktion geht verloren (das Boot ist nicht mehr mit dem Anker verbunden, Abbildung 2). Infolgedessen werden Duchenne-Muskelfasern sehr leicht beschädigt, selbst durch normale Bewegung.



Mutationen im Dystrophin-Gen, die den genetischen Code nicht unterbrechen, erlauben die Erzeugung eines Dystrophins, das teilweise funktionsfähig 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.



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 Therapieentwicklung 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 aufzuzeigen, dass die Behandlung sowohl wirksam als auch sicher ist. Man sollte berücksichtigen, dass zwar jeder Schritt kritisch ist, der nachfolgende Schritt aber immer herausfordernder wird. Wenn also ein Präparat in einem ersten Schritt (z.B. Zellstudien) funktioniert, ist dies keine Garantie für weitere Erfolge in Tierstudien oder Studien an 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 den 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 1: Wir haben viele Muskeln – etwa 30-40 % unseres Körpergewichts besteht aus Muskeln, 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 Gebiet der Gentherapie virale Vektoren entwickelt; die viralen Gene werden dabei entfernt, so dass es Raum für das neue Gen gibt und die modifizierten Viren nicht mehr pathogen (krankheitserzeugend) sind.

Herausforderung 2: Die meisten Viren mögen es, sich teilende Zellen zu infizieren. 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 und folglich das Dystrophin-Gen nicht injizieren kann.

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 3: Leider ist AAV so klein, dass der genetische Code von Dystrophin nicht hineinpasst (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 alleinig die 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 4: Als ein Hundemodell (Golden-Retriever-Muskeldystrophie 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 beim Menschen eine Immunantwort induziert. Die Immunantwort wird alle fremden Eindringlinge (Viren, Bakterien, Parasiten) angreifen, der Organismus hat keine Möglichkeit zu wissen, dass diesmal das Virus ein gutes Gen trägt.

Lösung: Wege zur Reduktion der Immunantwort werden derzeit untersucht. Möglichkeiten dazu sind die Unterdrückung der Immunantwort oder die Identifizierung von AAV-Subtypen die beim Menschen weniger immunogen sind (es gibt viele AAV-Subtypen).

Zu beachten: Etwa 20 % der Personen sind mit einer Variante von AAV infiziert. Diese Personen haben Antikörper gegen AAV entwickelt, so dass eine Therapie mit dieser spezifische Variante des viralen Vektors nicht in Frage kommen würde

Klinische Studien: Die [erste klinische Studie](#), in der Patienten lokale AAV-Mikrodystrophin-Injektionen in den Armuskel erhielten, wurde in den USA (Mendell, Xiao Xiao und Samulski) durchgeführt. Die Resultate der Studie wurden [veröffentlicht](#). Die Autoren dokumentierten eine sehr schwache Expression ihrer Mikrodystrophin-Variante und der erwarteten Immunantwort auf AAV.

Herausforderung: Wie erwähnt, machen Muskeln 30-40 % unseres Körpers aus. Um eine Wirkung zu erzielen, , müssen alle Muskeln bzw. Muskelgruppen behandelt werden. Die alleinige

Behandlung einzelner Muskeln ist nicht ausreichend. Dies erfordert jedoch riesige Virusmengen (ein Junge wiegt ~4000 mal mehr als eine junge Maus).

Lösung: Nach Optimierung des Herstellungsprozesses können viel mehr Viruspartikel produziert werden. Dies ermöglicht die Durchführung von Studien, bei welchen statt nur kleiner Muskelareale ganze Muskelgruppen (z.B. im Arm oder Bein) behandelt werden können.

Herausforderung: Bei der Injektion von Viruspartikeln in den Blutkreislauf werden sie im ganzen Körper verteilt, so dass nicht genügend Viruspartikel für jeden Muskel vorhanden sind.

Lösung: Systeme zur Beschränkung der Abgabe von Viren an bestimmte Muskeln wurden in Tiermodellen (z.B. hydrodynamische Gliedmaßenperfusion und regionale Gliedmaßenperfusion) entwickelt. Nun können genügend Mengen an Viruspartikeln an ausgewählte Muskeln abgegeben werden.

Klinische Studien: Um zu testen, ob diese Abgabemethoden beim Menschen toleriert werden können, wurden klinische Studien an erwachsenen Muskeldystrophie-Patienten durchgeführt. Dabei wurden große Mengen an Kochsalzlösung in gleicher Weise wie ein Gentherapievirus in Beine oder Arme injiziert. Dies hat gezeigt, dass die Zufuhr von bis zu 20 % des Gliedmaßenvolumens sicher und gut verträglich ist (d.h. 2 Liter Lösung bei einem 10 kg schweren Bein).

Zu beachten: 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 muskeldystrophen 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.

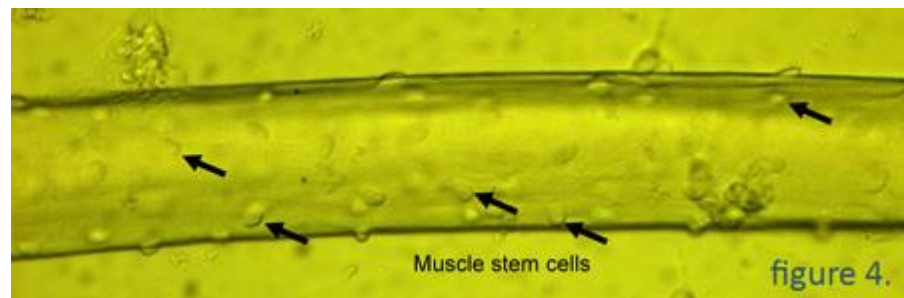
Zukunft: Vorbereitungen für Studien, bei denen eine oder mehrere Muskeln im Arm oder Bein mit AAV-Mikrodystrophin behandelt werden, sind in den USA durch Solid Ventures und Pfizer und in Europa (Kollaboration zwischen George Dickson, London, UK und Genethon, Frankreich) im Gange. [Eine Studie](#), in der Patienten mit einer lokalen Injektion in einen Muskel des Fußes behandelt werden, wurde in Columbus, Ohio initiiert.

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 die Muskelstammzellen (auch Satellitenzellen oder Myoblasten genannt) sich zu teilen und zum Ort des Schadens zu wandern. Dort verschmelzen sie mit dem beschädigten Muskel und reparieren ihn so. Diese Stammzellen können aus einer Muskelbiopsie isoliert und im Labor vermehrt 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 Muskelzellen, die direkt in Muskeln injiziert werden, wandern nicht mehr als 1-2 mm vom Stichkanal weg.

Lösung: Mehrere Injektionen (z. B. 100 pro Quadratzentimeter) durchführen. Dies wurde bei Duchenne-[Patienten](#) getestet ([siehe auch hier](#)), Dystrophin-positive Zellen wurden im Anschluss tatsächlich an den Injektionsstellen beobachtet.

Klinische Studie: Eine klinische Studie, bei der Muskelstammzellen mit 100 Injektionen in einem kleinen Muskelbereich (0,25-1 cm²) 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 mit lokaler Myoblasten-Transplantation in den Unterarmmuskel von Patienten im Alter von 16 Jahren und älter läuft derzeit in Kanada.

Herausforderung 3: Trotzdem ist es unmöglich mit dieser Behandlungsform Muskelzellen an alle Muskeln im Körper zu liefern.

Lösung: Es gibt noch andere Stammzellformen im Blut, in Blutgefäßwänden und im Fettgewebe, die die Fähigkeit aufweisen, sich in Muskelzellen zu verwandeln. Diese Zellen können im Labor isoliert und vermehrt 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, Muskelzellen zu bilden, ist die Effizienz im Moment sehr gering (< 1 % der transplantierten Zellen enden als Muskelzellen).

In Durchführung: Eine [Studie](#), bei der CD133+ -Zellen von Duchenne-Patienten gewonnen wurden (aus dem Blut isoliert), im Labor vermehrt 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) beobachtet.

Klinische Studie: Eine Studie zur Beurteilung der Sicherheit der Mesangioblasten-Transplantation (erhalten von nicht betroffenen Brüdern) bei Duchenne-Patienten wurde in Italien ([Cossu](#)) durchgeführt. Fünf Patienten wurden Mesangioblasten intraarteriell injiziert. Es handelte sich um eine Sicherheitsstudie, eine Verbesserung der Muskelfunktion wurde weder festgestellt noch erwartet. Weitere Arbeiten zur Verbesserung des Transplantationsprotokolls zur Erarbeitung zukünftiger Studien sind im Gange.

Klinische Studie 2:

Herz-Stammzellen können das Potenzial haben, die Progredienz der Herzerkrankung bei DMD-Patienten zu verlangsamen. Capricor führt derzeit eine [Sicherheitsstudie](#) an DMD-Patienten mit Herzerkrankungen durch, um zu beurteilen, wie gut die lokale Injektion von Spenderherz-Stammzellen in das Herz toleriert wird.

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. Arbeiten sind derzeit im Gange klinisch anwendbare iPS-Zellen zu erzeugen und das Protokoll so zu

optimieren, dass Muskelvorläuferzellen sicher, effizient und in standardisierte Art und Weise angewandt werden können.

Herausforderung 6: Die Transplantation der Spendermuskeln wird eine Immunantwort hervorrufen (wie jede Transplantation von Gewebe 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 vermehren und 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). Zudem ist es möglich, dass das Immunsystem noch immer auf die transplantierten Zellen reagiert, obwohl sie vom Patienten sind: Aufgrund der Manipulation im Labor werden die Zellen wahrscheinlich verändert, das Immunsystem erkennt dies.

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, weshalb in kultivierten Zelle die Zelle, in der die Schere erfolgreich war, zuerst identifiziert werden muss (meist nur ~1 von 1000). Anschliessend wird die Zellevermehrung dann in die Mausmodelle transplantiert.

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 einzufügen, 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 Machbarkeitsnachweis für diesen Ansatz im *mdx*-Mausmodell. Obwohl dies ermutigend ist, sollte man bedenken, dass die DNS-Scheren an die Mehrheit der Muskelzellen geliefert werden müssen. Somit bestehen die gleichen

Herausforderungen wie bei der Gen- oder Zelltherapie bezüglich der Übertragbarkeit dieser Resultate von der Maus zu grösseren Tieren und zu Menschen.

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

Nachteil: Die Medikamente behandeln nur (einen Teil der) Krankheitssymptome, nicht die Ursache. Dennoch kann dies bei erfolgreicher Behandlung das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamen.

Vorteil: Im Allgemeinen 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 bei anderen Krankheiten verwendet wurden, auch bei Duchenne-Patienten angewandt werden. 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 auf, 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: Bisher wurden nur wenige Studien 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). Der allgemeine Konsens ist jedoch, dass Kortikosteroide die Krankheitsprogression verzögern und daher Teil der [Standardbehandlung von DMD sind](#). Sie können 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 nur der Immunsuppression wirken (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 bei den meisten Patienten zu Nebenwirkungen. Die häufigsten sind Gewichtszunahme, Depressionen, Verhaltensprobleme, Wachstumsretardierung, verzögerte Pubertät und Verlust der Knochenmasse. Viele weitere Nebenwirkungen sind beschrieben.

Lösung 1a: Für manche Patienten können Nebenwirkungen durch ein „On-Off“- Behandlungsschema reduziert werden. Steroide werden z.B. nur jede zweite Woche oder nur während den Wochentagen und nicht an Wochenenden eingenommen oder es werden nur an Wochenenden hohe Dosen eingenommen. Für einige Patienten treten weniger Nebenwirkungen auf, wenn Deflazacort eingenommen wird.

Lösung 1b: Manche Patienten tolerieren eine Kortikosteroid-Langzeitbehandlung nicht. Wenn die Nebenwirkungen überwiegen (z.B. Gewichtszunahme in einem solchen Ausmaß, dass es die Muskelfunktionalität beeinträchtigt anstatt sie zu verstärken), kann es sinnvoll sein, die Behandlung zu stoppen (dies sollte natürlich nur nach Rücksprache mit dem behandelnden Arzt erfolgen, da das abrupte Absetzen der Steroidbehandlung zu schweren Nebenwirkungen führen kann).

Herausforderung 2: Es sind verschiedene Kortikosteroid-Behandlungsschemata in Anwendung. Es ist noch nicht bekannt, ob ein Regime optimaler ist als andere. Für klinische Studien, welche therapeutische Ansätze untersuchen, wäre die Anwendung eines standardisierteres Therapieregime bei allen Patienten die in der Studie teilnehmen zu bevorzugen.

Lösung 2: Die [FOR-DMD](#)-Studie vergleicht positive 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.

Herausforderung 3: Es ist nicht bekannt, wann der beste Zeitpunkt ist mit der Kortikosteroidtherapie zu beginnen. Aufgrund der Nebenwirkungen (Wachstumshemmung, Fettleibigkeit und

erhöhte Osteoporose) beginnen die meisten Kliniker nicht vor dem Alter von 3-4 Jahren.

Klinische Studie: Um zu testen, ob ein Beginn vor dem Alter von 3 Jahren vorteilhaft ist, ist eine klinische Studie an 1-30 Monate alten DMD-Patienten [im Gange](#). Um die Nebenwirkungswahrscheinlichkeit zu senken nehmen die Patienten nur zweimal pro Woche hohe Dosen von Prednison ein.

Cyclosporin

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

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 (den Körper vor Infektionen zu schützen), erhöht das Immunsystem in diesem Fall die Schädigung. 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](#).

Vamorolon

Vamorolon (früher VBP15) ist eine nicht-steroidale Verbindung, die von Biopharma entwickelt wurde. Die Hoffnung ist, dass dieses Präparat die positiven Effekte von Kortikosteroiden induziert, nicht aber die Nebenwirkungen. Im *mdx*-Mausmodell wurde das tatsächlich beobachtet. Eine Phase-1-Studie an gesunden Probanden wurde

abgeschlossen. Eine Phase-2-Studie an [Patienten](#) ist nun in den USA im Gange, eine weitere Phase 2-Studie an Patienten ist in Europa geplant.

Edasalonexent: CAT1004 (Edasalonexent) ist ein entzündungshemmendes Medikament, das von Catabasis entwickelt wurde. Es wurde an gesunden Erwachsenen getestet. Eine zweistufige Phase-1/2-Studie bei DMD Patienten wurde vor kurzem [abgeschlossen](#). Edasalonexent war sicher und gut verträglich. Allerdings konnte nach 12 Wochen Behandlung im Vergleich zu Placebo im MRT keine vermehrte entzündungshemmende Wirkung beobachtet werden. Alle Patienten erhalten derzeit eine Behandlung und werden in einer offenen Studie weiterverfolgt.

Deflazacort ist in den USA noch nicht auf dem Markt. [Marathon](#) Pharmaceuticals hat eine offene Studie in den USA bei DMD-Patienten durchgeführt und hat die Zulassung zur Behandlung von DMD in den USA durch die FDA erhalten. Die Markteinführung von Deflazacort ist in den USA aufgrund ausstehenden Diskussionen über die [Preisgestaltung](#) noch nicht erfolgt.

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 ein weiterer Faktor ist, der zur Bildung von Narbengewebe führt und die Energieproduktion von Muskelfasern durch die Mitochondrien (Stromgeneratoren) beeinträchtigt. Im Muskel führt dies zum Verlust der Muskelfunktion, im Herz zu einer reduzierten Pumpfunktion (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 und verhindert so die Bildung von Narbengewebe. So könnte die Herzpathologie, die bei vielen jugendlichen Patienten beobachtet wird, verzögert oder sogar verhindert werden. Die Skelettmuskelfunktion könnte länger aufrecht 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 ist und einen langsameren Abfall der Atemfunktion bei behandelten Patienten im Vergleich zur Placebo-Gruppe bewirken kann. Eine Placebo-kontrollierte Phase-3-Studie bei Patienten mit Kortikosteroiden wird [in Kürze initiiert](#). Santhera hat 2016 sowohl bei der European Medicine Agenturen (EMA) als auch bei der Food and Drug Administration (FDA) ein Gesuch für die Zulassung eingereicht. 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.

Halofuginon

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

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

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

Lösung: Von Akashi Therapeutics wurde eine andere Formulierung hergestellt (HAT-100), die besser verträglich ist.

Klinische Studie: Eine erste klinische [Studie](#) zur Prüfung der Sicherheit von HT-100 wurde bei DMD-Patienten in den USA abgeschlossen. Diese Studie wurde vorübergehend unterbrochen, weil bei Hunden bei sehr hohen Dosierungen eine Toxizität 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. Bei den behandelten Patienten wurde im Vergleich zur Baseline eine Verbesserung der Muskelkraft beobachtet. Eine Bestätigungsstudie wurde initiiert, diese musste jedoch gestoppt werden, da traurigerweise ein Studienpatient verstarb. Es wird derzeit untersucht, ob dieser Tod mit HT-100 in Beziehung stand.

Andere Präparate zur Verringerung der Fibrose

Pentoxifyllin wurde in einer klinischen Studie [getestet](#). Es wurde festgestellt, dass es die Progression der Krankheit nicht verlangsamte und von den Patienten [schlecht](#) vertragen wurde. Flavocoxid ist ein weiteres Antioxidans, das in einer [Phase-1-Studie an Duchenne-Patienten](#) getestet wurde, um die Sicherheit zu beurteilen. Eine Studie zur Untersuchung der Sicherheit von Coenzym Q10 (ein anderes Antioxidans) mit und ohne gleichzeitiger Behandlung mit Lisinopril [läuft derzeit](#) in den USA bei DMD-, Becker- und Gliedergürtel-Muskeldystrophie-Patienten.

FG-3019 von FibroGen ist ein Antikörper gegen CTGF, einem Wachstumsfaktor, der bei der Produktion und der Aufrechterhaltung von fibrotischem Gewebe eine Schlüsselrolle spielt. Man vermutet, dass FG-3019 die Funktion von CTGF hemmt und auf diese Weise die Fibrosebildung reduziert. Eine klinische Studie zur Untersuchung von FG-3019 bei 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 wird derzeit von Cardero Therapeutics vorbereitet.

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.

(Gefäßerweiterung)

Ziel: Verbesserung der Herz- und/oder Muskelfunktion

Hintergrund: Wenn Muskeln kontrahieren, wird Blut aus den Blutgefäßen herausgedrückt, während kontrahierende Muskeln jedoch mehr Blut (Sauerstoff und Nährstoffe) benötigen. Normalerweise würden sich die Blutgefäße im Muskel bei der Kontraktion kompensatorisch erweitern. Dies wird teilweise durch die Produktion von Stickoxid (NO) durch das nNOS-Synthaseenzym reguliert. Dieses Enzym wird durch Dystrophin in der Muskelmembran der Blutgefäße befestigt. Ohne

Dystrophin ist das nNOS-Synthase-Enzym nicht richtig lokalisiert. Somit wird die Fähigkeit, Blutgefäße in Herz und Muskulatur zu erweitern, reduziert. Dies kann zu einer unzureichenden Sauerstoffversorgung von Muskeln und Herz führen und somit die Muskel- und Herzzellen schädigen. Es gibt viele zugelassene Medikamente, die die Erweiterung von Blutgefäßen verbessern können. Die unten aufgeführten Medikamente sind bei Duchenne-Patienten in klinischen Studien getestet worden.

Lisinopril

Lisinopril ist ein ACE-Hemmer (ACE ist eine Abkürzung für Angiotensin-converting Enzyme = Angiotensin umwandelndes Enzym). Das Molekül Angiotensin 2 führt zu einer Verengung von Blutgefäßen. Angiotensin 1 wird durch ACE in Angiotensin 2 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.

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 gestoppt 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 Herzkomplikationen 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 den

Untergruppen. Aufgründdessen 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, die Behandlung konnte eine Herzinsuffizienz verhindern. Diese Präparate werden nun in einer [klinischen Studie](#) an DMD-Patienten getestet.

Medikamente zur Verbesserung der Muskelmasse und -qualität

Myostatin-Hemmung

Ziel: Die Steigerung der Muskelmasse durch eine Reduktion 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 den Umsatz vieler muskelbezogener Gene), es gibt aber noch andere verwandte Proteine mit ähnlichen Funktionen. Myostatin und verwandte Proteine binden an „Rezeptoren“ der Muskelzellen. Die Bindung signalisiert der Muskelfaser das Wachstum zu stoppen (z.B. der Umsatz der Muskel-assoziierten Gene wird reduziert, 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 gegen Myostatin erreicht werden. Diese Antikörper binden an Myostatin und verhindern somit die genetische Herunterregulierung der Muskelmassenbildung. 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 entwickelt. Adnectin wurde an gesunden Probanden getestet und wurde gut vertragen. Eine Studie, um die Sicherheit zu beurteilen, ist in den USA und Kanada bei gehfähigen Duchenne-Patienten [im Gange](#). Eine globale Follow-up-Studie zur Bewertung der Wirksamkeit ist geplant.

Die Firma Acceleron (jetzt übernommen von Shire) hat einen löslichen Myostatinrezeptor (ACE-031) produziert, der die Myostatin-Antikörper-Wirkung in Duchenne-Mausmodellen übertraf. Dies wahrscheinlich weil er zusätzlich zu Myostatin auch andere Faktoren binden kann, die die Muskelgröße reduzieren. Dieser lösliche Rezeptor wurde [an gesunden Probanden getestet](#). Die Medikation 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 Zahnfleischblutungen 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 an Tiermodellen wurden durchgeführt, leider konnte durch die Ergebnisse eine weitere Entwicklung dieses Präparates nicht unterstützt werden.

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 führt. 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 unter Verwendung von Genen als genetische Blaupause (oder ein Rezept) für die Proteinproduktion hergestellt. 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 produzieren nur Proteine, die in der Leber benötigt werden. Menschen haben 20.000 Gene, in der Regel wird jedoch nur ein Teil dieser Gene im jeweiligen 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), und diejenigen die sie nicht verwendet.

Weil sich die im Muskel produzierten Proteine von denen im Narbengewebe unterscheiden, unterscheiden sich in diesen Geweben auch die Gene, die als „verwendet“ und „nicht verwendet“ markiert werden. Dies bedeutet, dass sobald Muskelgewebe fibrotisch wird, sich die Art und Weise, wie Gene markiert werden, auch ändern wird. Dies wiederum führt dazu, dass der Muskel noch weiter fibrotisch wird (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 die Muskelqualität zudem kam es zu einer verringerten Fibrosebildung.

Klinische Studien: Givinostat ist ein HDAC-Hemmer, der bei Kindern als sicher beurteilt 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 recht gut vertragen wurde. Die Analyse von Muskelbiopsien deutete im Vergleich von Vor- und Nachbehandlungsbiopsien auf eine Verringerung von Fibrose, Nekrose und Fett hin. Eine offene Verlängerungsstudie ist derzeit im Gange. Eine internationale Phase-3-Studie zur Prüfung der Wirksamkeit bei gehfähigen DMD-Patienten soll 2017 beginnen.

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, indem sie das Leck korrigieren. Bei *mdx*-Mäusen war die Rycall-Behandlung von Vorteil. Vorbereitungen für eine klinische Studie bei DMD-Patienten durch Servier sind am laufen. Ein weiteres potentiell Medikament, das die Kalziumspiegel in Muskelfasern normalisieren kann, ist Remeporid (von Esperare). Eine Phase-1-Studie an DMD-Patienten zur Überprüfung der Sicherheit von Remiporid ist derzeit [im Gange](#).

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. Dies jedoch 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. Bei Duchenne-Patienten und Tiermodellen wird Utrophin jedoch auch 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. Diese können ein Gen ausschalten oder es in verschiedenen Geweben auf niedrig oder hoch setzen (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 bei Einnahme mit einer Mahlzeit genügend Substanz aufgenommen wird, um eine Utrophin-Hochregulation zu ermöglichen. Diese Formulierung wurde an DMD-Patienten in drei verschiedenen Dosierungen getestet, 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. Die führte zu einer verbesserten Aufnahme; 6/12 Duchenne-Patienten hatten einen Medikamentenspiegel, von welchem, basierend auf Mausdaten, erwartet wird, dass die Utrophin-Expression um 30-50 % ansteigt. Eine Phase-2-Studie zur Beurteilung der Wirksamkeit bei gehfähigen Duchenne-Patienten ist derzeit in Großbritannien und den USA [im Gange](#).

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 bei Untergruppen von Patienten mit spezifischen Mutationen funktionieren (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 krankheitsverursachende Mutation im Dystrophin-Gen muss identifiziert werden).

Überspringen von Exons (Exon-Skipping)

Ziel: Den genetischen Code zu korrigieren und die Produktion eines partiell funktionsfähigen 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 dazwischenliegenden 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, wodurch der Code unleserlich wird. Dies führt zu einem vorzeitigen Abbruch der Übersetzung vom Gen ins Protein. Bei Becker-Patienten sind die Mutationen so, dass der genetische Code aufrechterhalten bleibt, entsprechend kann ein Protein gebildet werden, welches die funktionsfähigen Domänen enthält.

Das Überspringen von Exons zielt darauf ab, den genetischen Code von Duchenne-Patienten wiederherzustellen, so dass anstelle eines nicht-funktionsfähigen Duchenne-Proteins ein teilweise funktionsfähiges, Becker-ähnliches Dystrophin-Protein hergestellt werden kann. 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 zum Überspringen des genannten Exons und entsprechend zu einer 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 bewirkte ein Überspringen von Exonen, was zur Produktion von Becker-artigen Dystrophinen in von Patienten abgeleiteten, kultivierten

Zellen und dem *mdx*-Mausmodell führte. Im Mausmodell war durch die Therapie eine funktionelle Besserung zu beobachten.

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 Deletion haben und diese sich in einem Hotspot anhäufen, trifft das Überspringen einiger Exone ([einiger Exons](#) = Link!) für mehr Patienten zu als für andere. Eine Bilddarstellung der Exone 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 Exonen vorteilhaft für die Mehrheit der Mutationen wäre, gibt es einige [Ausnahmen](#).

Herausforderung 1: Exon-Skipping kann nicht bei gesunden Probanden getestet werden, da das Überspringen eines Exons, das den genetischen Code bei Patienten wiederherstellt, den genetischen Code bei gesunden Menschen unterbricht (also diese potenziell in Duchenne-Patienten verwandelt).

Klinische Studien: Die [erste klinische Studie](#) testete die lokale Injektion von Exon 51 AONs im Schienbeinmuskel von vier Duchenne-Patienten (Prosensa (jetzt BioMarin) und LUMC). Das Dystrophin wurde bei jedem Patienten lokal wiederhergestellt.

Eine [zweite Studie](#) fand unter Verwendung einer anderen chemischen Zusammensetzung in London statt (Muntoni/AVI Biopharma (jetzt Sarepta)).

Herausforderung 2: Über 30 % des menschlichen Körpers besteht aus Muskeln, so dass es unmöglich ist, lokale Injektionen in jeden einzelnen Muskel durchzuführen.

Lösung 2: Aufgrund der Krankheit sind Patienten- und Mausmuskeln undicht (beschädigt). Der gesunde Muskel nimmt AONs aus dem Blut nicht auf, dahingegen nehmen undichte, beschädigte Muskeln AONs auf. In diesem Fall hilft die Krankheit der Behandlung. Intravenöse und subkutane Injektionen in Mausmodellen haben zu einem Überspringen von Exonen und zur Dystrophin-Wiederherstellung im ganzen Körper geführt.

Klinische Studien: Klinische Studien wurden abgeschlossen, in denen verschiedene Dosierungen von 2OMePS- (Prosensa Therapeutics/GSK) oder [PMO-](#) (AVI-Biopharma (jetzt

Sarepta)) AONs durch subkutane Injektion oder intravenöse Injektion getestet wurden. Sowohl die [2OMePS-](#) als auch die [PMO-](#)Behandlung scheint zu einer Dystrophin-Wiederherstellung zu führen.

Das PMO-AON, das auf Exon 51 abzielt, heißt derzeit Eteplirsen oder Exondys51. Da nicht alle Patienten in der systemischen Studie gleichermaßen reagierten, wurde bei einer kleineren Folgestudie mit 12 Patienten eine höhere Dosierung angewandt. Dystrophin wurde bei allen Patienten nach 24 Wochen Eteplirsen-Behandlung hergestellt. Die Patienten wurden anschliessend für bis zu 168 Wochen behandelt. Bei den 10 gehfähigen Patienten fiel der 6-Minuten Gehstest weniger ab, als es der natürliche Verlauf erwarten lassen würde (dies sollte jedoch aufgrund der kleinen Gruppengröße mit Vorsicht interpretiert werden).

[Eine Phase-3-Studie](#), bei der eine wöchentliche intravenöse Dosis von 30 mg/kg Eteplirsen für 96 Wochen an gehfähigen Patienten getestet wird, läuft derzeit in den USA. Dies ist eine offene Studie, bei der Patienten mit Mutationen, die auf ein Überspringen von Exon 51 ansprechen, behandelt werden, während Patienten mit nicht zugänglichen Mutationen als Kontrollen für Funktionstests und Sicherheit verwendet werden. Darüber hinaus wurden in den USA offene Studien an [jungen Patienten](#) (jünger als 6 Jahre) und an Patienten mit [eingeschränkter](#) oder [fehlender Gehfähigkeit](#) initiiert. In der Studie mit den jungen Patienten wird wieder eine Gruppe mit nicht zugänglichen Mutationen als Kontrolle verwendet.

Aufgrund der Daten der Langzeitbehandlung von 12 Patienten hat Sarepta eine beschleunigte Zulassung bei der Food and Drug Administration in den USA eingereicht. Die FDA forderte im Juni 2016, dass Sarepta spezifische Daten der laufenden Phase-3-Studie (Dystrophin-Wiederherstellung in Biopsien mit einer Technik namens Western Blotting) vorlegt. Basierend auf der Analyse dieser Biopsien hat die FDA am 19. September 2016 angekündigt, dass Eteplirsen die beschleunigte Zulassung gewährt wird. Sarepta muss den klinischen Nutzen in weiteren klinischen Studien, die derzeit laufen und geplant sind, bestätigen. Im Dezember 2016 beantragte Sarepta die Zulassung bei der Europäischen Arzneimittelagentur. Die Auswertung ist derzeit noch ausstehend.

Das 2OMePS-AON, das auf Exon 51 abzielt, wird derzeit Drisapersen oder Kyndrisa genannt. Alle Patienten, die an der frühen subkutanen Studie beteiligt waren, wurden in eine offene Erweiterungsstudie eingeschlossen, in der sie eine wöchentliche Behandlung mit Drisapersen erhalten. Die Patienten sind seit mehr als 6 Jahren behandelt (einschließlich Behandlungspausen). Für 8/10 Patienten, die zu Beginn der Erweiterungsstudie noch gehfähig waren, hat sich die 6-Minuten-Gehdistanz stabilisiert, während der

natürliche Verlauf eine Abnahme vorhersagen würde. Allerdings fehlte eine Placebo-Gruppe, weshalb diese Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert werden sollten.

GlaxoSmithKline (GSK) hat Drisapersen von Prosensa in Lizenzierung und hat mehrere Studien koordiniert. In allen Studien mit subkutaner Injektion von Drisapersen wurden Reaktionen an der Injektionsstelle beobachtet, weiter trat bei den mit Drisapersen behandelten Patienten häufiger als bei den Placebo Behandelten eine Proteinurie auf. Eine Studie, die verschiedene Dosierungsschemata verglich, 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 im 6-Minuten-Gehtest ~35 Meter mehr als mit Placebo behandelten Patienten.

Eine Studie, die verschiedene Dosierungen verglich, wurde bei Patienten, die in einem frühen Krankheitsstadium waren (imstande in 15 Sekunden vom Boden 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 alle erhobenen Daten der systemischen Studien und Erweiterungsstudien analysiert. Die Ergebnisse deuteten 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 eine [beschleunigte Zulassung bei der Food and Drug Administration](#) und um die [Zulassung bei der Europäischen Arzneimittelagentur](#) eingereicht. Darüber hinaus hatten sie stufenweise mit der Wiederbehandlung von Patienten der 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](#) den Rückzug ihres Antrags auf Zulassung bei der EMA an.

Herausforderung 3: AONs überspringen verschiedene Exone und werden deshalb von den Regulierungsbehörden als unterschiedliche Medikamente betrachtet. Dies bedeutet, dass die Entwicklung von AONs für verschiedene Exone sehr kostspielig und zeitaufwendig ist, da jedes durch alle Stadien der präklinischen und klinischen Entwicklung gehen muss.

Lösung: Hoffentlich wird die AON-Entwicklung nach den ersten zwei oder drei schneller werden. TREAT-NMD koordiniert im Auftrag von Exon-Skipping-Wissenschaftlern, Klinikern, Industrie und der Patientengemeinschaft die Diskussion mit den Regulierungsbehörden.

[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 Studien: Sarepta hat eine Studie für PMOs, [die auf Exon 53 abzielen](#), (Zusammenarbeit mit Francesco Muntoni in London) [gestartet](#). Sie [planen](#) eine Placebo-kontrollierte, 96-Wochen-Phase-3-Studie zur Untersuchung von Exon-45- und 53-AONs. Nippon Shinyaku (Japan) führt derzeit eine [klinische Studie](#) mit PMOs für Exon-53-Skipping in Japan durch. In den USA ist [geplant](#), im 3./4. Quartal 2016 eine Placebo-kontrollierte Sicherheits- und Dosisfindungsstudie mit dem gleichen Präparat zu beginnen. Nippon Shinyaku beurteilt ebenfalls AONs mit der [ENA-Chemie](#) für Exon 45 in Japan. Darüber hinaus bereitet sich Wave therapeutics auf eine Exon-51-Skipping-Studie mit einer neuen AON-Modifikation vor.

Prosensa/BioMarin hat eine [Phase-I/II-Studie](#) abgeschlossen, bei der verschiedene Dosierungen von 2OMePS-AONs, die auf Exon 44 abzielen, mit intravenösen und subkutanen Injektionen getestet wurden. Studien, die 2OMePS-AONs testen, die auf [Exon 45](#) und [Exon 53](#) abzielen, wurden von Prosensa/BioMarin gestartet. Allerdings ist die klinische Entwicklung dieser Präparate nun [gestoppt](#) worden und BioMarin konzentriert sich auf die Entwicklung von Exon-Skipping-Präparaten der nächsten Generation.

Medikamente zur Stopcodon-Überlesung

Ataluren und Gentamicin

Anwendung: Diese Medikamente funktionieren nur bei 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. Ein Stoppsignal signalisiert, dass die Proteinübersetzung vollständig ist. Dies ist bei ~10-15 % der Duchenne-Patienten der Fall. Das Medikament kann auch bei Personen mit einem Stoppcodon in anderen Genen (z.B. Patienten mit cystischer Fibrose) vorteilhaft sein.

Ziel: Die Zelle zwingen, das mutierte Stoppcodon 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 innerhalb vom Gen ein Stoppsignal 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 Stoppcodons unterdrücken, während sie die normalen Stoppcodons nicht beeinflussen. Das erste Arzneimittel, das in kultivierten Zellen und Duchenne-Mausmodellen dies bewirkte, war Gentamicin (ein Antibiotikum der Aminoglykosid-Klasse).

Klinische Studien: Gentamicin wurde an Duchenne-Patienten getestet, hat aber nie überzeugend die Wiederherstellung von Dystrophin gezeigt.

Herausforderung 1: Zusätzlich zu seiner geringen Wirksamkeit ist Gentamicin bei Langzeitanwendung 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 Stoppcodons zu ignorieren, ohne die toxischen Nebenwirkungen aufzuweisen. 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. Eine erste Studie an Duchenne-Patienten, in der Patienten mit verschiedenen Tagesdosen Ataluren während 4 Wochen behandelt wurden, zeigte, dass die Behandlung gut verträglich war und dass die Dystrophin-Expression bei

behandelte Patienten gesteigert werden konnte. [Studien zur Überprüfung](#), ob dies auch zu einer funktionellen Verbesserung in längeren klinischen Studien führt, wurden in mehreren Zentren in den USA und Europa durchgeführt.

Leider führte die Behandlung im Vergleich zu Placebo-behandelten Patienten nicht überzeugend zu einer funktionellen Verbesserung im 6-Minuten Gehstest und daher wurden die Studien [auf Eis](#) gelegt. Patienten, die an diesen Studien in den [USA](#) und Europa beteiligt waren, konnten 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 Vergleich zu Placebo-behandelten Patienten im Durchschnitt 15 Meter mehr in 6 Minuten. In der vorab definierten Untergruppe der Patienten (zu Beginn der Studie zwischen 300 und 400 Metern in 6 Minuten gehend) gingen die mit Translarna behandelten Patienten 47 Meter weiter als die mit Placebo behandelten Patienten. Translarna-behandelte Patienten schnitten auch in anderen Funktionstests besser ab. Wie zuvor wurde Translarna gut vertragen.

PTC reichte im Januar 2016 einen Antrag für eine beschleunigte Zulassung bei der Food and Drug Administration (USA) ein. Die FDA schickte im Februar 2016 einen „Ablehnung der Einreichung“-[Brief](#) an PTC mit der Ankündigung, dass die aktuellen Daten nicht ausreichen, um eine FDA-Überprüfung zu ermöglichen.

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 Duchenne-Patienten, die eine Nonsense-Mutation aufweisen und fünf Jahre oder älter sind, zugelassen.

Innerhalb der Europäischen Union ist Translarna derzeit in Deutschland, Österreich, Dänemark, Norwegen und Großbritannien verfügbar, wobei Frankreich, Italien und Griechenland ein Programm 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) überprüft werden.