

# Oversikt over forskning knyttet til Duchenne muskeldystrofi

Skrevet av professor Annemieke Aartsma-Rus, Nederland.

Oversatt til norsk av Nevromuskulært kompetansesenter (NMK)

Formålet med oversikten er å informere pasienter og foreldre om ulike terapeutiske tilnærminger til Duchenne muskeldystrofi som for tiden forskes på.

Oversikten beskriver fordeler og ulemper ved metodene, og hindringer som må overvinnes før de kan tas i bruk som pasientbehandling.

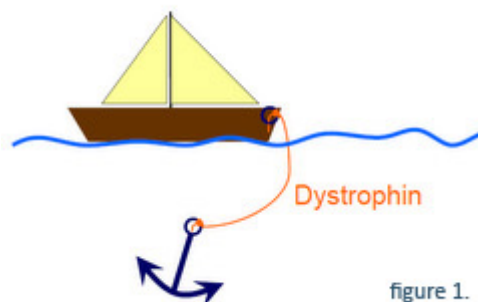
**Merk:** Forskningsfeltet innen behandling av Duchenne muskeldystrofi (DMD) er kjempestort og i rask utvikling. Derfor er det umulig å inkludere absolutt alle forskningsprosjekter i en kort oversikt. Denne oversikten gir en kort beskrivelse av hovedtrekkene i forskningen.

**Denne oversikten ble sist oppdatert i september 2018**

En stor takk til Duchenne Parent Project (Nederland) og Duchenne Parent Project Onlus (Italia) for bidrag til reiseutgifter slik at Annemieke Aartsma-Rus kunne delta på årlige internasjonale møter i USA og Italia.

## Årsak til DMD

Duchenne muskeldystrofi skyldes mutasjoner (genetiske feil) som ødelegger den genetiske koden til dystrofingenet. Dette genet fører vanligvis til produksjon av dystrofinproteinet i muskelcellene. Dystrofinproteinet knytter muskelcellenes indre «skjelett» til den beskyttende cellemembranen på utsiden av muskelcellen. Denne forbindelsen stabiliserer muskelfibrene under muskelsammentrekning (trening). Jeg liker å forklare funksjonen av dystrofin ved å sammenligne med et anker (muskelskjelettet) og en båt (den beskyttende cellemembranen), hvor dystrofinet er tauet som forbinder de to.



På grunn av feilen i den genetiske koden kan cellen bare produsere første del av proteinet, og forbindelsesfunksjonen tapes (båten er ikke lenger koblet til ankeret, figur 2). Resultatet blir at muskelfibrene hos en med Duchenne veldig lett skades, selv ved vanlig fysisk aktivitet.



Mutasjoner i dystrofingenet som ikke ødelegger den genetiske koden fullstendig kan gi et dystrofin-protein som er delvis funksjonelt (dvs. den kan koble ankeret til båten, men tauet er litt kortere (figur 3)). Disse mutasjonene gir den noe mildere varianten som kalles Becker muskeldystrofi.

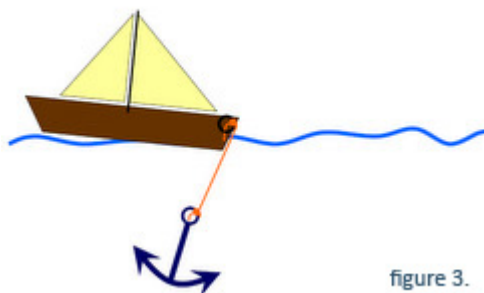


figure 3.

## Utvikling av behandlingsmetoder

Det er mange forskjellige tilnærminger i utviklingen av nye behandlingsmetoder. De fleste følger den samme veien som først innebærer prekliniske studier, deretter kliniske studier. Først testes metoden på cellekulturer (dyrkede pasientceller), deretter i [dyremodeller](#) der sykdommen først er påført dyret (vanligvis [mdx mus](#)), og deretter - når resultatene i celle og dyre studiene er tilstrekkelig overbevisende, prøves det ut på pasienter (kliniske studier). Denne delen av metodeutviklingen kan ta svært lang tid, fordi det ofte oppstår uventede problemer som må overvinnnes. Kliniske studier er delt i to faser: Tidlige faseforsøk gjøres for å vise at preparatet er sikkert for pasienten. I senere stadiumsforsøk er målet å vise at behandlingen er effektiv i tillegg til at den er sikker. Hvert trinn i utviklingen er vanskelig. Selv om en metode virker i første trinn (for eksempel cellestudier), er det ingen garanti for videre gode resultater i studier på dyr og mennesker.

## Genterapi

- Formål:** Å innføre et friskt gen i muskelceller hos personer med DMD, for å muliggjøre normal dystrofinproduksjon.
- Bakgrunn:** Gener består av DNA som finnes på kromosomer som er tilstede i cellenes kjerner. Dystrofingenet inneholder den genetiske koden for dystrofin, som leses av cellen og oversettes til produksjon av dystrofinprotein.
- Utfordring 1:** Vi har mye muskler i kroppen - omtrent 30-40% av kroppsvekten er muskelmasse. Vi har mer enn 750 forskjellige muskler, hver muskel består av flere milliarder celler. Det friske genet må innføres i en stor del av cellekjernene i alle musklene.
- Løsning:** Heldigvis finnes det en organisme som er ganske god til å injisere gener i celler: virus. Derfor er det innen genterapi-feltet utviklet såkalte virale vektorer. Det er virus hvor virusgenene er fjernet, og erstattet med et nytt gen. De modifiserte virusene er da ikke lenger sykdomsfremkallende.

- Utfordring 2:** De fleste virus liker å infisere celler som er i ferd med å dele seg. Muskelceller deler seg lite, og er dermed et vanskelig mål for virusvektorer. I tillegg er muskelfibre innhyllet i flere lag med bindevev, som generelt fanger opp viruspartikler. Viruset med friskt dystrofin-gen har da problemer med å nå muskelfibrene for å injisere genet.
- Løsning:** Det fins et virus som er relativt god til å infisere muskelceller, det såkalte AAV-viruset. Dette viruset kan infisere menneskeceller, men er ikke sykdomsfremkallende.
- Utfordring 3:** Dessverre er AAV-viruset så lite at den genetiske koden for dystrofin ikke passer (hele genet er ca. 500 ganger for stort, den genetiske koden er ca. 4 ganger for stor).
- Løsning:** Forskere har forsøkt å lage et lite dystrofin-gen som bare inneholder de mest nødvendige bestanddelene (mikro-dystrofin). Den genetiske koden til denne mikro-dystrofinen er liten nok til å passe inn i AAV-vektoren.
- I Duchenne-musemodellen (mdx-mus) ga behandling med AAV-virus som inneholdt mikro-dystrofin, en forbedret muskelkvalitet og muskelfunksjon.
- Utfordring 4:** I en studie med hunder (golden retriever muscular dystrophy, kalt GRMD) som ble behandlet med AAV-mikrodystrofin, ga behandlingen en immunrespons. Det førte til at celler som var infisert med AAV-mikrodystrofin ble ødelagt av immunsystemet. Fra kliniske studier på mennesker, der andre gener er brukt (for eksempel for å behandle blødersykdom), vet vi at AAV også gir immunrespons hos mennesker. Immunreaksjoner har som oppgave å angripe alle fremmede inntrengere (virus, bakterier, parasitter), og har ingen evne til å skille de sykdomsfremkallende «onde» fra «gode» virus som inneholder et nyttig gen.
- Løsning:** For tiden undersøkes måter å redusere immunresponsen på. Dette kan gjøres ved å undertrykke immunresponsen med høye doser steroider.
- Merk at:** Omtrent 20% av oss er tidligere smittet med en subtype av AAV-viruset og har utviklet antistoffer mot AAV. Det vil være til hinder for å motta virale vektorer av den spesifikke subtypen.
- Kliniske forsøk:** Den [første kliniske studien](#) hvor pasienter fikk lokale AAV-mikrodystrofin-injeksjoner i armmuskelen, ble utført i USA (Mendell, Xiao Xiao og Samulski). Denne studien ble gjort med en AAV-subtype som vi nå vet gir kraftig immunrespons. Resultatene fra dette forsøket er [publisert](#). Forfatterne rapporterer lite påvisning av mikrodystrofin i

muskelcellene. Det antas å skyldes immunrespons (antistoffer) mot AAV.

**Utfordring:** Som nevnt utgjør muskler 30-40 % av kroppen vår. For å få effekt må alle muskler eller muskelgrupper behandles med metoden. Det holder ikke med et lite område av en enkelt muskel. Dette krever store mengder virus (en ung gutt veier omtrent 4000 ganger mer enn en ung mus).

**Løsning:** Ved å optimalisere produksjonsprosessen kan man fremstille større mengder virus-partikler til kliniske- behandlingsforsøk. Det gjør det mulig med forsøk der viruspartikler gis som intravenøs injeksjon slik at hele kroppen kan behandles i stedet for bare små deler av muskulaturen.

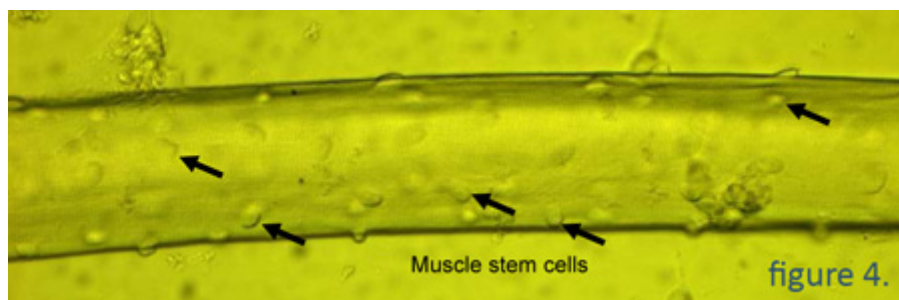
**Kliniske studier 2:** Det er for tiden 3 [kliniske](#) studier med AAV-mikrodystrofin. I en klinisk studie i Columbus, Ohio (koordinert av Sarepta Therapeutics) gis AAV-mikrodystrophin intravenøst til unge Duchenne-pasienter samtidig som de også får høye doser steroider. Så langt har tre pasienter blitt behandlet. Muskelbiopsi er analysert etter 90 dagers behandling, og viser at de fleste muskelcellene uttrykker da mikro-dystrofin. Totalnivået av mikrodystrofin tilsvarer ca 40 % av dystrofinnivået i normalmuskulatur. Denne studien ble stoppet i august 2018 fordi det ble oppdaget en urenheter i råmaterialet som ble brukt i fremstillingen. En studie, koordinert av [Solid Ventures](#), brukte litt annerledes type AAV-mikrodystrophin-system, men ble stoppet etter at den første pasienten fikk en alvorlig hendelse etter infusjon av AAV-mikrodystrofin. Studien startet opp igjen i juni 2018. Parallelt med dette foregår en studie med en litt annen type AAV-mikrodystrofinvariant ved [Pfizer](#).

**Merk at:** Det er påvist i sikkerhetsforsøk på hunder og aper at høye doser med AAV-vektorer kan gi lever eller hjerneproblemer. Vektortypen som er brukt i disse forsøkene er annerledes enn den som brukes i mikrodystrofin-forsøkene. AAV-genet integreres ikke i DNA. Det er positivt sett fra et sikkerhetsperspektiv, men det betyr at mikrodystrofin-genet kan forsvinne etter hvert. [Studier](#) av dystrofiske hunder antyder at mesteparten av injisert gen går tapt etter 5 år. Det er ikke kjent om dette også er tilfelle hos mennesker.

## Celleterapi

**Formål:** Å overføre muskelceller fra en frisk donor (som inneholder et friskt dystrofingen) til Duchenne muskler for å kompensere for ødelagt muskelvev, og la donorcellene starte normal produksjon av dystrofin.

**Bakgrunn:** Muskelvev består av muskelfibre som ikke deler seg, og av muskelstamceller som ligger utenpå fiberen (Figur 4). Når muskelfiberen er skadet vil muskelstamcellene (også kalt satellittceller eller myoblaster) begynne å dele seg. De vil flytte til skadestedet og smelte sammen med den skadede muskelen for å reparere den. Stamcellene kan isoleres fra en muskelbiopsi og dyrkes i laboratoriet, og deretter transplanteres til muskelvev hos en med Duchenne.



**Utfordring 1:** Muskelstamceller kan ikke bevege seg fra blodbanen inn i muskelvevet.

**Løsning:** Lokal injeksjon i en affisert muskel.

**Utfordring 2:** Selv om stamcellen blir sprøytet direkte inn i muskelvevet, beveger den seg ikke mer enn 1-2 mm fra stikkstedet.

**Løsning:** Å foreta mange injeksjoner (for eksempel 100 pr kvadrat cm). Dette har vært testet på Duchenne-[pasienter \(se også her\)](#), hvor det i etterkant ble påvist dystrofin-positive celler ved stikkstedet.

**Klinisk studie:** En klinisk studie der muskelstamceller ble injisert med 100 stikk på et lite område av muskelen (0.25-1 cm<sup>2</sup>) er nå fullført i Canada ([Tremblay](#) og [Skuk](#)). Behandlingen var uten alvorlige bivirkninger og dystrofinpositive fibre kunne påvises i muskelbiopsi tatt fra behandlet muskulatur. [En ny studie](#) med lokal transplantasjon av myoblaster i underarmsmuskel på pasienter (16 år og eldre) pågår nå i Canada.

**Utfordring 3:** Det er umulig å bruke denne formen for behandling for å injisere muskelceller til alle musklene i kroppen.

**Løsning:** Det finnes andre stamceller i blodet, blodkarvegger og fettvev som kan medvirke til muskeldannelse. Disse cellene kan isoleres og dyrkes i laboratoriet. Fordelen er at disse cellene sannsynligvis er i stand til å bevege

seg fra blodbanen til muskler, slik at behandlingen kan gi effekt i hele kroppen.

**Utfordring 4:** Selv om disse cellene kan medvirke til muskeldannelse, er effekten for øyeblikket svært lav (<1% av de transplanterte cellene ender i muskel).

**Under utvikling:** Et [forsøk](#) er fullført i Italia (Torrente). Der er det brukt CD133+ celler som er hentet fra Duchenne-pasienter (isolert fra blod), dyrket i laboratoriet, deretter transplantert tilbake i håndmusklene til pasientene.

**Framtid:** Det forskes for tiden på metoder for å øke effekten av denne behandlingen. Det er oppnådd lovende resultater i mus- og hundemodeller med «mesangioblaster» (gruppe ledet av Giulio Cossu) og «CD133 +» -celler (gruppe ledet av Ivan Torrente).

**Kliniske forsøk:** I Italia er det gjennomført kliniske forsøk på gutter med Duchenne ([Cossu](#)) for å teste sikkerheten ved transplantasjon av mesangioblaster (celler hentet fra friske brødre). Fem pasienter fikk innsprøytet mesangioblaster inn i blodårene (arteriene). Dette var et forsøk for å teste sikkerheten i metoden. Det ble verken forventet eller påvist noen forbedring i muskelfunksjonen. Det arbeides videre med å forbedre protokollen for transplantasjonsforsøk i fremtidige studier.

**Utfordring 5:** Det er vanskelig å skaffe tilstrekkelige mengder stamceller til transplantasjon, fordi stamceller bare har begrenset kapasitet til å dele seg.

### **Løsning:**

Det er nå mulig å omprogrammere modne celler slik at de får stamcelleegenskaper (induserte pluripotente stamceller eller iPS-celler). Disse cellene har et stort potensiale til å dele seg og kan differensiere (videreutvikles)-til alle mulige celletyper. Det er viktig at cellene kun utvikles til muskel-progenitorceller. Det arbeides for tiden med å utvikle kliniske anvendelige iPS-celler, og optimalisering av protokollen for å oppnå muskel-progenitorceller på en sikker, effektiv og standardisert måte.

**Utfordring 6:** Transplantasjon av donors muskelceller vil fremkalle en immunrespons (som ved transplantasjon av annet vev fra en donor).

**Løsning a:** Behandling med legemidler som undertrykker immunforsvaret. Det er standardbehandling for personer som får donorvev. Dessverre er kronisk behandling med disse legemidlene ikke uten bivirkninger (for eksempel blir man mer utsatt for infeksjoner).

**Løsning b:** Isolere muskelceller fra pasientene, dyrke dem i laboratoriet og behandle dem (for eksempel med genterapi) i laboratoriet. Deretter transplanteres pasientens egne celler tilbake (autolog transplantasjon). Genterapi er mye

mer effektivt på celler (i laboratoriet) enn i vev (i en person). Dessuten er det kanskje ikke nødvendig med behandling for å undertrykke immunsystemet, fordi det er pasientens egne celler som transplanteres.

**Utfordring 7:** For at dette skal fungere, må man fremdeles jobbe for å optimalisere metoden for effektiv levering av muskelceller, eller andre stamceller til muskelvev (se utfordring 1-4). Det er mulig at immunsystemet vil reagere på de transplanterte cellene, selv om de er fra pasienten. På grunn av manipulasjonen i laboratoriet er cellene sannsynligvis endret og immunsystemet kan reagere på dette.

**Løsning:** Det er nå mulig å lage små endringer i DNAet til en celle (i laboratoriet), uten å måtte legge til et gen (ved hjelp av DNA-«saks» - forskjellige typer er utviklet: ZNF, TALEN og RGN (også kalt CRISPR / Cas9)). Disse DNA-saksene jobber med lav effektivitet. I dyrkede celler må cellene der sakse-metoden fungerer godt identifiseres (vanligvis bare ca 1 av 1000 celler), deretter dyrkes, og til slutt transplanteres i museforsøk.

Vanligvis er den genetiske feilen i dystrofin-genet ganske stor, og DNA-saksen kan ikke reparere store feil. Det er imidlertid mulig å introdusere en feilkostruksjon for å skjule et skadelig exon permanent i DNA-molekylet (se exon-skipping-avsnittet). Arbeidet er fortsatt på et tidlig stadium. Det gjenstår mye arbeid før man kan vurdere om metoden er sikker, og om den kan prøves på mennesker. I 2016 viste tre publikasjoner i tidsskriftet Science at metoden virker i mdx-musemodell, og i 2018 kan en artikkel dokumentere at modellen også virker i hundeforsøk. Dette er oppmuntrende, men man må huske på at DNA-saksene må kunne fungere i mesteparten av muskelcellene. Hovedutfordringene med genterapi eller celleterapi ligger i å klare å overføre det som fungerer på mus til også å fungere i større dyr og mennesker. Videre forskning er nødvendig for å klarlegge hvor spesifikke gensaksene er – og om det er en sikker metode for bruk på mennesker.

**En annen måte å bruke stamceller på** Hjertestamceller kan ha potensiale til midlertidig å forsinke hjertemuskelkadene hos DMD-pasienter ved at de produserer beskyttende vekstfaktorer. Denne effekten er forbigående, fordi stamcellene vil dø. Capricor har gjennomført en sikkerhets-[test](#) på DMD-pasienter med hjertesykdom for å undersøke toleransen for lokal injeksjon av donor hjertestamceller i hjertet. Behandlingen ble godt tolerert og man observerte en liten reduksjon av fibrose i hjertene hos pasientene. Det ble også observert en trend til forbedret funksjon i armene. Capricor planlegger oppfølgingsstudier for å bekrefte funnene, og vil teste om intravenøs tilførsel av stamceller er mulig. Stamceller vil bli injisert hver tredje måned.

# Legemiddel-behandling

**Formål:** Bruke legemidler til å behandle forskjellige aspekter ved sykdommen.

**Bakgrunn:** På grunn av manglende dystrofin i cellemembranen, blir pasientens muskelfibre lett skadet under fysisk aktivitet og trening. Skadet muskelvev erstattes av arrvev (fibrose) og fettvev (løst bindevev med fettceller). Denne prosessen er irreversibel (kan ikke gjenopprettes) og forverres av immunresponsen som utløses av muskelskaden. Legemidler kan bidra til å øke veksten av muskelceller, for å kompensere for det muskelvevet som skades. Alternativt kan de undertrykke immunsystemet eller forhindre arrveddannelse.

**Ulempe:** Medikamenter behandler bare noen av symptomene på sykdommen, ikke årsaken. Likevel, når man lykkes med behandlingen, kan sykdomsutviklingen forsinkes.

**Fordel:** Vanligvis kan medisiner svelges (tas oralt), og virker på alle musklene i kroppen (ingen problemer med distribusjon til mange celler slik som ved gen- og celleterapi). Noen ganger kan legemidler som allerede brukes til å behandle andre sykdommer, også brukes til å behandle Duchenne-pasienter. Dette gjør det raskere å ta medisinen i bruk, siden mye informasjon allerede er kjent (for eksempel giftighet, dose osv.).

Det er et stort antall medikamenter som er ansett som fordelaktig hos Duchenne-pasienter og / eller i forsøk med laboratoriemus med muskeldystrofi. I dette avsnittet viser vi de som er testet hos pasienter, samt de typene som ga svært lovende resultater i musemodeller.

Vi har delt inn de forskjellige legemidlene i følgende kategorier:



# Anti-inflammatoriske preparater

## Kortikosteroider (prednisone, deflazacort etc)

**Formål:** Å undertrykke immunforsvaret for å redusere dannelse av arrvev.

**Bakgrunn:** Kortikosteroider er medikamenter som kan undertrykke immunforsvaret. Når muskelvev skades, vil det fremkalle en immunrespons (kroppen vet ikke hva som forårsaker skaden - det kan være et virus, bakterier osv.). Selv om immunresponsen har de beste intensjonene (for å beskytte kroppen mot infeksjoner), øker immunsystemet sykdommens alvorlighetsgrad. Immunceller frigjør giftige stoffer (for å drepe bakterier osv.) Dette øker muskelcelleskadene og dannelse av arrvev.

Ved å undertrykke immunforsvaret med kortikosteroider, vil muskelskadene bli mindre alvorlig, og mindre arrvev blir dannet.

**Kliniske studier :** Det er ikke gjort [mange studier](#) for å sammenligne pasienter som er behandlet med kortikosteroider, med de som ikke er behandlet, eller å sammenligne en type kortikosteroid med en annen (for eksempel prednison sammenlignet med deflazacort). Det er alminnelig enighet om at kortikosteroider forsinker sykdomsutviklingen, og derfor er det blitt en del av den [anbefalte behandlingen for DMD](#). Behandlingen vil forsinke avhengigheten av rullestol med ca 1-3 år, forbedre muskelstyrken og muskelfunksjonen, og midlertidig utsette svekkelse av pustefunksjon. Steroider har ikke vært i bruk lenge nok til at man sikkert vet om de gir livsforlengelse.

Det er meget sannsynlig at kortikosteroider fungerer på andre måter enn å hemme immunforsvar (det antas at de kan øke uttrykket for utrophin og /eller stabilisere muskelfibre, slik at de er mindre sårbare for skade). Det forskes på dette. Denne hypotesen bekreftes av at medikamenter som kun undertrykker immunsystemet, er

mindre effektive enn kortikosteroider (se for eksempel under i avsnittet om Cyklosporin).

**Utfordring 1:**

Kortikosteroider må tas regelmessig og kontinuerlig, noe som gir bivirkninger hos de fleste pasienter. De vanligste bivirkningene er vektøkning, depresjon, atferdsproblemer, vekstretardasjon, forsinket pubertet og utvikling av benskjørhet, og mange flere er beskrevet.

**Løsning 1a:**

Hos noen pasienter kan bivirkninger reduseres med et «on-off»- behandlingsregime. For eksempel tas steroider bare hver annen uke, på hverdager (ikke i helger), eller høye doser tas kun i helgene. Noen pasienter opplever mindre bivirkninger med medikamentet deflazacort.

**Løsning 1b:**

Kontinuerlig behandling med kortikosteroider tolereres dårlig av noen pasienter. Hvis bivirkningene er større enn fordelene (f.eks. stor vektøkning i en slik grad at det går ut over muskelfunksjonaliteten), kan det være best å stoppe behandlingen (dette bør selvfølgelig bare gjøres etter diskusjon med behandlende lege fordi brå stopp av steriodebehandlingen kan medføre alvorlige bivirkninger).

**Utfordring 2:**

Mange forskjellige behandlingsregimer med steroider er i bruk. Det er ikke kjent om ett regime er mer optimalt enn andre. Mer standardiserte regimer for pasientene vil være en fordel for resultatene i kliniske studier.

**Løsning 2:**

I [FOR-DMD-studien](#) sammenlignes fordelaktige effekter og bivirkninger av de mest brukte doseringsregimene med prednisolon (daglig behandling vs 10 dager på - 10 dager av) og daglig behandling med deflazacort. Studien foregår i minst 40 nevrologiske klinikker i USA, Canada, Storbritannia, Tyskland og Italia. Det er lukket for rekruttering til studien.

**Vamoralone**

Vamorolon (tidligere VBP15) er et ikke-steroid medikament utviklet av Reveragen Biopharma. Håpet er at dette medikamentet vil ha de samme gunstige effekter som steroidebehandling, men uten bivirkningene. Dette er i hvert fall observert i museforsøk (mdx-musemodellen). En fase 1 studie [er fullført](#) hos friske

deltakere, og en fase 2a-studie på [pasienter](#) er fullført i USA, og placebo-kontrollert fase 2b-studie med pasienter foregår i USA og Europa.

### **Edasalonexent:**

CAT1004 (edasalonexent) er et antiinflammatorisk legemiddel utviklet av Catabasis. Det har blitt testet hos friske voksne. En to-trinns fase 1/2 studie med DMD-pasienter er nylig [fullført](#). Edasalonexent var sikkert og godt tolerert. Det ble ikke påvist antiinflammatorisk effekt ved MR når man sammenlignet placebo- og behandlingsgrupper etter 12 ukers behandling. Alle guttene ble da satt i høydose-gruppen. Det ser ut til at muskelfunksjonen ble [stabilisert](#) etter 48-60 ukers behandling i forhold til progresjonen før behandlingen startet. Pasientene får fortsatt behandling i en åpen fase av studien. Det planlegges en fase 3-studie for å bekrefte resultatene.

### **MNK1411**

MNK1411 (cosyntropin) er et menneskeskapt hormon som har lignende antiinflammatoriske virkninger som kortikosteroider. Resultater i mdx-mus antyder at MNK1411-behandling resulterer i mindre betennelse. Selskapet Mallinckrodt Pharmaceuticals [planlegger](#) en klinisk studie på DMD-pasienter som ikke bruker steroider, for å teste om injeksjoner med MNK1411 har terapeutiske effekter.

### **Deflazacort**

[Marathon](#) Pharmaceuticals gjennomførte en åpen studie for Deflazacort i [USA](#) med DMD-pasienter, før preparatet ble markedsført i USA.

De har nå fått godkjenning av FDA i USA for medikamentet som behandling av DMD. Firmaet PTC har fått rettighetene til deflazacort i USA og markedsfører nå stoffet.

### **Cyclosporine**

**Bakgrunn:** Cyklosporin er et medikament som undertrykker immunforsvaret. Når muskelvev blir skadet, vil dette fremkalle en immunrespons (kroppen vet ikke hva som forårsaker skaden - det kan vel være et virus, en bakterie osv.). Selv om immunresponsen har de beste intensjonene (å beskytte kroppen mot infeksjoner), øker immunforsvaret skadelige sykdomsprosesser.

Immunceller frigjør giftige stoffer (med sikte på å drepe bakterier osv.), noe som øker muskelcelleskader og dannelse av arrvev.

Ved å undertrykke immunforsvaret med cyklosporin vil ødeleggelsen av muskelcellene bli mindre alvorlige og mindre arrvev dannes. Det antas å gi mindre bivirkninger enn steroider.

**Klinisk studie:** En klinisk studie ble utført i Tyskland (Rudolf Korinthenberg i Freiburg) for å vurdere om cyklosporin-behandling er gunstig for pasienter. Dessverre ble det [ikke påvist noe forskjell](#) mellom pasienter behandlet med og uten cyklosporin.

## Preparater som kan redusere fibrosedannelse

### Idebenone (Catena)

**Formål:** Å redusere arrvevsdannelse.

**Bakgrunn:** På grunn av dystrofinmangel er skjelett- og hjertemuskelene hos Duchenne-pasientene under kontinuerlig stress (oksidativt stress). Denne prosessen fører også til dannelse av arrvev, og forstyrrer muskelcellenes energiproduksjon i mitokondriene (cellenes «kraftverk»). Dette fører til tap av muskelfunksjon. I hjertet resulterer det i redusert pumpefunksjon (hjertet blir «stivere»). Idebenone hjelper mitokondriene til å øke energiproduksjonen. Idebenone (Raxone®) reduserer også oksidativt stress (det er en antioksidant) og forhindrer arrvevdannelse i hjerte og skjelettmuskulatur. Derfor kan hjertesvikten som ses hos mange unge pasienter utsettes eller til og med forhindres, og kvaliteten på skjelettmuskulaturen antas å kunne opprettholdes lenger.

**Kliniske studier:** Santhera har [testet](#) idebenone på Duchenne pasienter. Det har vist seg å være ufarlig i bruk. Det er gjennomført en [Fase 3- studie](#) for å vurdere hvor effektivt Idebenone/Raxone® virker på lungefunksjon, motorisk funksjon, muskelstyrke og livskvalitet hos pasienter som ikke bruker steroider. Resultater viser at Idebenone var godt tolerert. Det ble påvist langsommere tilbakegang i respiratorisk funksjon hos behandlede pasienter sammenlignet med placebogruppen. En placebokontrollert fase 3 studie hos pasienter som

bruker steroider er [igangsatt](#). Santhera har søkt om markedsføringstillatelse med både European Medicine Agencies (EMA) og Food and Drug Administration (FDA) i 2016.

I juli 2016 svarte [FDA](#) at de må ha testresultater fra steroidebehandlede pasienter allerede ved søknadstidspunktet. Den aktuelle søknaden kan derfor ikke vurderes. I 2017 kom utvalget for humanmedisinske preparater med en negativ vurdering av bruken av Idebenone/Raxone® for DMD.

## Halofuginone

<b>Formål:</b>	Å redusere inflammasjon og fibrosedannelse, og forbedre gjenoppbygging av muskelvev.
<b>Bakgrunn:</b>	Halofuginone er et preparat som øker muskelgjenoppbygging, reduserer betennelsesreaksjoner, og reduserer fibrosedannelse.
<b>Utfordring:</b>	Halofuginone gir ofte bivirkninger (mage-tarm-problemer).
<b>Løsning:</b>	En annen form av dette preparatet er lagd (HT-100) av Akashi Therapeutics. Denne varianten gir mindre bivirkninger.
<b>Klinisk studie:</b>	En første klinisk <a href="#">studie</a> som testet om HT-100 er trygg å bruke, er fullført på DMD-pasienter i USA. Studien ble satt på vent fordi toksisitet ble observert hos hunder som fikk svært høye doser. Etter ytterligere testing og revurdering av dataene, tillot FDA at studien fortsatte. Foreløpige resultater tyder på at HT-100 tolereres godt. Det ble påvist forbedring av muskelstyrke hos pasienter etter behandling sammenlignet med målinger gjort før behandling. En studie som skulle bekrefte funnene ble startet, men måtte <a href="#">suspenderes</a> etter at en pasient som deltok i studiet dessverre døde. Det ble påvist at denne pasienten fikk en alt for høy dose av HT-100. Det vurderes oppfølgingsstudier for å vurdere sikkerheten ved lavere doser.

## Andre preparater som reduserer fibrosedannelse

FibroGens FG-3019 er et antistoff mot CTGF, en vekstfaktor som spiller en nøkkelrolle i produksjon og opprettholdelse av fibrosevev. FG-3019 forventes å forhindre at CTGF virker, og på denne måten reduserer mengden fibrosedannelse. En klinisk studie for å

evaluere FG-3019 hos ikke-gående DMD-pasienter [pågår](#).

Epicatechin er et molekyl som ligner på et hormon som produseres av cellens energiproduserende organeller (mitokondrier) under fysisk aktivitet. Dyreforsøk med Epicatechin viser produksjon av mitokondrier og økt regenerasjon av vev. Preparatet ga også redusert fibrose i muskeldystrofi-modeller. En liten pilotstudie med Becker muskeldystrofi-pasienter viser oppmuntrende resultater, og at behandling med epicatechin var godt tolerert. En studie med Duchenne-pasienter som har mistet gangfunksjonen, koordinert av Cardero Therapeutics og UC-Davis [pågår](#).

En studie i USA skal undersøke sikkerheten ved behandling med Coenzym Q10 (en annen antioksydant) med og uten samtidig behandling av lisinopril. Studien [pågår](#) (men rekrutterer ikke lenger deltagere). Deltakere er pasienter med Duchenne, Becker og Limb Girdle muskeldystrofi.

Andre preparater mot fibrosedannelse blir vurdert i prekliniske studier, f.eks. MTB-1 fra Astellas. Preparatet har som mål å forbedre mitokondrienes funksjonen og øke antallet av dem.

Pentoksifyllin har blitt [testet](#) i en klinisk studie. Resultater viste at medikamentet ikke bremsset sykdomsprogresjonen og i tillegg ble det [dårlig](#) tolerert av pasientene. Flavocoxid er en annen antioksidant som har blitt testet i en [fase 1 studie med Duchenne pasienter](#) for å vurdere sikkerheten.

## **Medikamenter som utvider blodkarene (Vasodilation)**

**Formål:** Å forbedre hjerte- og/eller muskelfunksjonen

**Bakgrunn:**

Når musklene trekker seg sammen, blir blodet presset ut av vevet, selv om muskler faktisk trenger mer blod (oksygen og næringsstoffer) når de arbeider. For å kompensere for dette vil blodkarene i muskelen normalt utvide seg ved sammentrekning. Dette reguleres delvis ved produksjon av nitrogenoksid (NO) av nNOS-syntase-enzymet. Enzymet er festet til membranen i muskelceller og i blodkar ved hjelp av dystrofinmolekylet. Uten dystrofin er nNOS-syntase enzymet ikke plassert korrekt, og dermed reduseres evnen til å utvide blodårer i hjerte og skjelettmuskel. Dette kan føre til for lite oksygen til muskel og hjerte, og dermed skade muskel og hjerteceller. Det er mange

godkjente legemidler som kan øke utvidelsen av blodårene. Medikamenter nevnt nedenfor er, eller har vært testet hos Duchenne-pasienter i kliniske studier.

## Lisinopril

Lisinopril er en ACE-hemmer (ACE er en forkortelse for angiotensin-omdannende enzym). Molekylet angiotensin 2 fører til innsnevring av blodkar. Dette molekylet omdannes fra angiotensin 1 av ACE. Ved å hemme denne omdanningen blir mindre angiotensin 2 produsert. Det reduserer innsnevringen av blodkarene. Effekten av lisinopril på hjertefunksjonen [testes](#) hos Duchenne-pasienter i USA, Japan og Canada. Denne studien tester også om kombinert bruk av Coenzyme Q10 (en antioksidant) og lisinopril gir ytterligere fordeler for hjertemuskel-funksjonen.

## Andre preparater som utvider blodårer

Spirolonaktone og eplerenon har gitt gode resultater i musemodeller, der behandlingen forhindrer hjertesvikt. Disse preparatene testes nå i en [klinisk studie](#) med DMD-pasienter. Det er lukket for rekruttering, og alle pasienter er behandlet. Resultatene kan ventes i 2018 eller tidlig i 2019.

## Revatio (Sildenafil) and Tadalafil

Revatio® (også kjent som Sildenafil eller Viagra) og Tadalafil er PDE5-hemmere. Når NO produseres, fører dette til en kaskade av reaksjoner som gir utvidelse av blodårene. PDE-enzymet angriper stoffer som produseres under kaskade-reaksjonen og motvirker utvidelsen av blodkaret. Når PDE-enzymet hemmes, fører det til en lengre effekt av blodåreutvidelsen.

**Klinisk studie:** Revatio er [testet](#) i en klinisk studie med DMD- og BMD-pasienter i Baltimore i USA. Forsøket ble avbrutt, siden [resultatene](#) viste at Revatio neppe vil gi positiv effekt for voksne personer med DMD når det gjelder hjerte- og muskelfunksjon. Det viser seg isteden å kunne gi en potensiell risiko for hjerteproblemer.

Basert på gode resultater etter en pilotstudie med tadalafil-behandling av en liten gruppe DMD-pasienter (forsker Ron Victor), startet Eli Lilly en dobbeltblindet placebokontrollert [studie](#) med 330 DMD-pasienter. Dessverre kunne ikke [resultatene](#) dokumentere at tadalafil hadde positiv effekt på sykdomsutviklingen i hele gruppen eller i undergrupper. Utvidelsen av studien

er derfor [stoppet](#). Eli Lilly har uttalt at de er villige til å dele resultater fra denne studien med DMD-forskningsmiljøet for å bidra til kliniske utprøving av andre aktuelle preparater.

## Medisin som bedrer muskelmasse og funksjon

### Myostatin-hemming

**Formål:** Å øke muskelmassen ved å redusere nivåene av muskelveksthemmende myostatin og lignende faktorer.

**Bakgrunn:** Det er faktorer som fremmer muskelvekst og faktorer som hemmer muskelvekst (fordi ikke alt vev skal bestå av muskler og fordi muskler forbruker mye energi, bør de ikke ha større volum enn nødvendig). Myostatin er en av de viktigste faktorene som begrenser muskelvekst (det senker voluminnstillingen i mange muskelrelaterte gener), men det er også andre proteiner med lignende funksjoner. Myostatin og beslektede proteiner binder seg til "reseptorer" på muskelcellene. Bindingen er et signal for at muskelfibrene stoppe veksten (dvs. volumet av muskelrelaterte gener blir skrudd ned, så det dannes færre muskelproteiner).

Når genet for myostatin-proteinet er forandret (mutert) og det ikke blir produsert myostatin, fører dette til økt muskeldannelse hos dyr (Belgisk blå-kyr, Texel sauer, greyhounds, mus) og mennesker. Denne kunnskapen resulterte i at man foreslo myostatin-hemming som en metode til å forbedre muskelmassen hos Duchenne-pasienter. Hvis det er mulig å forhindre at myostatin gjør jobben, bør dette øke muskeldannelsen og kompensere for tap av muskelvev hos Duchenne-pasienter. Myostatin-dannelse kan hemmes ved bruk av antistoffer mot myostatin. Antistoffene binder seg til myostatin-molekyler og forhindrer dem i å nå frem til «gen-bryteren», som hindrer at muskelveksten skrues ned.

Det samme kan gjøres ved å fremstille en oppløsning med reseptorer for myostatin. Disse vil binde seg til myostatin og blokkere for binding til reseptorer i muskelcellene. Signalet om reduksjon av muskelvekst når da ikke de muskelbundne reseptorene.

**Kliniske studier:** Myostatin antistoffer har blitt [testet](#) hos friske deltakere og ble ansett som trygt i bruk. De ble deretter [testet](#) hos voksne pasienter med muskelsykdommer. Behandlingen var trygg, men resultatene ga ikke økning i muskelmasse hos pasientene. Pasientene ble behandlet i 28 dager. Det kan hende det ikke var lang nok behandlingsperiode til å gi effekt.

En ny studie for å teste et myostatinantistoff (domagrozumab, PF06252616, fra Pfizer) er gjennomført på friske deltakere. [En fase 2 studie](#) for å teste tre forskjellige doser antistoff hos Duchenne-pasienter, er avbrutt. Pasientene ble behandlet i 96 uker.



Noen av deltakerne fikk antistoffet de første 48 ukene, andre fikk behandling de siste 48 ukene, og noen i hele perioden på 96 uker. Pfizer meldte i august 2018 at det primære endepunktet (kortere tid brukt på å gå opp fire trappetrinn) ble ikke oppnådd etter 48 ukers behandling, og at ingen av de sekundære gevinstmål heller ga signal om behandlingseffekt. Derfor stoppet de utviklingen av dette antistoffet som behandlingsmetode for Duchennepasienter.

Bristol-Meyers-Squibb har utviklet et annet myostatin antistoff-lignende preparat kalt BMS-986089 (adnectin). Utviklingen av preparatet adnectin er nå overtatt av Roche. Det er blitt testet hos friske deltakere som har tålt behandlingen godt. En studie med hensikt å vurdere sikkerhet har [rekruttert alle deltakere](#): gående Duchenne-pasienter i USA og Canada. For å vurdere sikkerhet og effekt [pågår](#) en global oppfølgingsstudie.

Selskapet Acceleron (nå tatt over av Shire) har utviklet myostatinreseptor-oppløsning (ACE-031) som fungerte bedre enn myostatinantistoffene i Duchenne-musemodeller. Det fungerer sannsynligvis bedre fordi i tillegg til at den kan binde seg til myostatin kan det også binde andre faktorer som reduserer muskelstørrelse. Denne oppløselige reseptoren har blitt [testet hos friske testpersoner](#). Testen viste at behandlingen ble godt tolerert og førte til økt muskelmasse i forhold til dose, med en økning på ca 1 kg med den høyeste dosen etter 2 ukers behandling. En [studie](#) for å teste om det er trygt med ytterligere doseøkning med ACE-031 hos Duchenne-pasienter er [avbrutt](#) fordi noen pasienter fikk mulige bivirkninger i form av uforklarlig nese og tannkjøttblødning. Den mest sannsynlige forklaringen er at reseptoroppløsningen kan binde andre signalpeptider i tillegg til myostatin (det vil si at det er mindre spesifikt enn myostatinantistoffene beskrevet ovenfor). Ytterligere tester i dyremodeller er gjort, og dessverre ga ikke resultatene grunn til videreutvikling av preparatet.

## Follistatin gen-produksjon

**Formål:** Å øke muskelmassen ved å motvirke muskelveksthemmeren myostatin.

**Bakgrunn:** Follistatin er et protein som hemmer dannelse av myostatin. Som beskrevet tidligere er myostatin et protein som igjen hemmer muskelvekst. Ved å øke nivåene av follistatin hemmes hemmeren (myostatin), noe som vil føre til økning i muskelmasse. Follistatin-genet har blitt overført til mus og aper ved bruk av en AAV-virusvektor (se genterapi-kapittelet for flere detaljer om utfordringer og muligheter-med genterapi). Injeksjonene resulterte i økning i muskelmasse og muskelstyrke.

**Kliniske studier:** Det [foregår](#) en klinisk studie hvor AAV-virusvektorer med follistatin-genet injiseres i lårmuskelen på Becker-pasienter. Deltakere rekrutteres fra Nationwide Children's Hospital (Columbus Ohio). Målet er å vurdere om behandlingen er trygg, og om muskelmasse og styrke i lårmuskelen

kan forbedres. I en oppfølgingsstudie blir denne metoden nå også testet på Duchenne-pasienter.

## **Andre måter å øke muskelstyrken på**

Tamoxifen er et godkjent legemiddel for å behandle østrogenavhengig brystkreft. Urs Rugg og Olivier Dorchies i Genève har vist i en studie med mdx-mus at tamoxifenbehandling forbedrer muskelstyrke og kvalitet. Det [pågår](#) nå en klinisk studie hos DMD-pasienter som baserer seg på funn fra museforsøkene.

## **Alternative måter å forbedre muskelkvalitet: HDAC - hemming**

Kroppen vår består av proteiner. De fleste av disse proteinene produseres av våre egne celler etter oppskrift fra gener. Hver celle inneholder en kopi av alle gener og kan i teorien produsere alle proteiner. Men muskelceller vil produsere kun proteiner som trengs i muskel, og leverceller vil produsere kun proteiner som trengs i leveren. Mennesker har 20.000 gener, men normalt er bare de vevs-spesifikke genene aktive. For å gjøre prosessen enklere, vil en celle markere gener som den ofte bruker (som når man bruker en merkelapp i en oppskriftsbok for å markere en favorittoppskrift). Gener som ikke blir brukt merkes også.

Proteiner som er produsert i muskler er forskjellig fra proteiner som er produsert i arrvev. Genene som er merket som "brukt" og "ikke brukt" kan derfor skille mellom disse vevstypene. Det betyr at når muskelvevet blir fibrotisk, vil måten genene merkes på endre seg. Det fører til en videre tendens til at muskelen blir fibrotisk (da cellen har vanskeligere å finne muskelgenene når de fibrotiske genene er markert).

HDAC-hemmere er forbindelser som kan "nullstille" dette systemet, og fjerne markeringene av fibrose-gener, også de "ikke brukt"-markeringene for muskelgener. I mdx-musemodellen ga behandling med HDAC-hemmere økt oppbygging av muskelvev og muskelkvalitet, og reduserte dannelse av fibrose.

### **Kliniske forsøk:**

Givinostat er en HDAC-hemmer som har vist seg trygg i bruk ved behandling av barn. Den har blitt testet hos DMD-pasienter i en [studie](#) i Italia av Italpharmaco. [Resultatene](#) fra den første lille studien som varte ett år, viste at behandlingen var godt tolerert. Hos noen få av pasientene, ble det observert reduksjon av blodplater kort etter at behandlingen var startet. Sammenligning av muskelbiopsier før og etter

behandling antydde en reduksjon av fibrose, nekrose og fett. En åpen oppfølgingsstudie er i gang. En internasjonal fase 3-studie for å teste effekt hos gående DMD-pasienter, er nå i [rekrutteringsfasen](#).

## Normalisering av kroppens kalsiumbalanse

**Prinsipp:** På grunn av mangel på dystrofin lekker kalsiumkanalen i muskelfibrene. Dette fører til unormale kalsiumnivåer i muskelen, som igjen fører til muskelskade, oksidativt stress og fibrose. Preparater kalt "Rycall" kan normalisere kalsiumbalansen, fordi de kan rette opp i lekkasjen. I mdx-mus var rycall-behandling gunstig. Servier forbereder en klinisk studie med DMD-pasienter. Et annet potensielt stoff som kan normalisere kalsiumnivåene i muskelfibre er Remeporide (fra Esperare). En fase 1 studie hos DMD-pasienter er [fullført](#) og viste at Remeporid-behandling ble godt tolerert. Esperare planlegger nå en fase 2-studie for videre testing av medikamentet på DMD-pasienter.

## Oppregulering av Utrophin

**Formål:** Å øke nivåene av det dystrofin-lignende proteinet *utrophin* i muskel.

### Bakgrunn:

Utrophin er et protein som er veldig lik dystrofin. Det danner samme kobling mellom celleskjelettet og bindevevet som dystrofin gjør, men primært i annet vev enn muskelvev. Utrophin er plassert på membranen i muskelfibrene under muskeloppbygging eller regenerering. Når dystrofinproduksjonen starter, vil dystrofin erstatte utrophin. I voksne muskler fins utrophin i små mengder, hovedsakelig ved overgangen mellom nerve og muskel (den nevromuskulære forbindelse). Hos Duchenne-pasienter og i dyremodeller uttrykkes utrophin også i muskelfibermembranen. Hos pasienter er disse økte nivåene likevel for lave til å gi effekt. Musmodeller har vist at 300-500 % økte nivåer av utrophin kan kompensere funksjonelt for mangel på dystrofin, og forsinke sykdomsutviklingen.

Gener har en «volumbryter» som reguleres av spesielle proteiner. Den kan slå av et gen, senke eller høyne nivået i forskjellige vev (noe som resulterer i henholdsvis lavt eller høyt proteinnivå). Utrophin-genbryteren er satt til et svært lavt nivå i muskel. Tusenvis av medikamenter blir undersøkt for å finne noen som kan øke nivået av utrophin-gen.

**Kliniske studier:** Flere typer medisin er oppdaget av Summit PLC (John Tinsley og Kay Davies, UK) og BioMarin Pharmaceutical Inc som kan øke utrophin-

mengde i dyrkede celler og dyremodeller. BioMarin har gjennomført [en klinisk fase 1-studie](#) hvor BMN-195-preparatet ble [testet](#) i friske personer. Dessverre ble mengden BMN-195 i blodet hos deltakerne, vurdert som for lav til å gi utrophin-oppregulering. BioMarin stoppet derfor utviklingen av dette preparatet. I mellomtiden har Summit produsert en optimert formel for BMN-195-forbindelsen (nå kalt ezutromid – tidligere SMT C1100) som skal gi bedre opptak.

**Kliniske studier 2:** Summit har testet den nye formelen på friske deltakere. Resultatet viser at opptaket var høyt nok til å få utrophin-oppregulering når medikamentet ble tatt ved et måltid. Denne formelen ble testet på DMD-pasienter i 3 forskjellige doser. Resultatene viste at opptaket ga høye nok nivåer i blodprøver for to av de 12 pasientene. En [oppfølgingsstudie](#) er gjort, der preparatet ble testet i forbindelse med et måltid med høyt fettinnhold. Dette forbedret opptaket hos 6 av 12 Duchenne pasienter som fikk doser der man ville forvente økt utrophin ekspresjon med 30-50 %, basert på musemodell-data. En fase 2 studie for å vurdere effektiviteten hos gående Duchenne pasienter er [igangsatt](#) (og rekruttering av deltakere er fullført) i Storbritannia og USA. Det ble tatt en [interim](#) biopsi etter 24 uker for å teste behandlingseffekt under studien. Biopsien viste 7% økning i utrophin-innhold. Analyse etter 48 uker viste at primære endepunkt og sekundære mål ikke ble oppnådd (altså ble det ikke påvist terapeutisk effekt) og [konklusjonen](#) fra Summit ble at utvikling av ezutromid som medikament for behandling av Duchenne ble avbrutt.

## Andre metoder for å øke utrophin-nivået

Andre måter for å øke utrophin-nivået er i preklinisk fase. Biglycan fra Tivorsan tar sikte på å øke både utrophin og nNOS. Laminin-111 fra Prothelia har til hensikt å øke utrophin og integrin (et annet protein som knytter muskelfibre til bindevev og forbedrer stabiliteten).

## Metoder tilpasset spesifikke mutasjoner

Exon skipping og «lesning forbi stopp-kodon» er en type behandling som kun fungerer for spesifikke mutasjoner. Det betyr at behandlingen bare vil fungere for pasienter der sykdommen skyldes spesifikke mutasjoner (se mer informasjon i lengre ned). For å vite om en Duchenne pasient er kvalifisert for exon-skipping- eller lesing forbi stopp-kodon-metoden, er det viktig å ha en genetisk verifisering av diagnosen (det vil si at mutasjonen i dystrofinogenet må identifiseres).

## Exon skipping

**Formål:** Å korrigere den genetiske koden slik at man får produksjon av et delvis funksjonelt dystrofin-protein.

**Bakgrunn:** De genetisk kodene er fordelt ut i såkalte exoner. Når et protein skal produseres, lager genet en midlertidig kopi (kalt RNA). Før RNA kan oversettes til protein, må exonene samles og mellomstykkene som ikke inneholder genetisk kode (introner) må fjernes. Dette er en prosess som kalles "spleising".

Hos Duchenne-pasienter er det en skade (et brudd) i dystrofinets genetiske kode. Koden blir uleselig. Det resulterer i at oversettelsen fra gen til protein avbrytes for tidlig. Hos personer med Becker muskeldystrofi har mutasjonen beholdt den genetiske koden. Det gjør det mulig å produsere proteinet med delvis funksjon.

Exon-skippping tar sikte på å reparere den genetiske koden hos Duchenne-pasienter, slik at et delvis funksjonelt Becker-lignende dystrofinprotein kan produseres, i stedet for et ikke-funksjonelt Duchenne-protein. Dette oppnås ved bruk av AONer (antisense-oligonukleotider). AON er små biter av modifisert RNA som gjenkjenner et spesifikt exon, binder seg til det og maskerer det i spleisemekanismen. Det skadde exon (se over) kan nå hoppes over og den genetiske koden kan leses slik at funksjonelt protein kan produseres.

[Annemieke Aartsma-Rus forklarer exon skipping i denne filmen \(engelsk språk\)](#)

Exon skipping forklares også i denne '[Dance your PhD](#)' video.

I dyrkede celler fra pasienter og i mdx-musemodeller har det lyktes å gjøre exon skipping ved hjelp av AON-behandling. Det har muliggjort produksjon av Becker-lignende dystrofin. I musemodellen førte behandlingen til funksjonell bedring.

Det finnes forskjellige typer AON (kjemiske sammensetninger).

**Anvendelsesmuligheter:** [For å gjenopprette den genetiske koden er det nødvendig å hoppe over \(skippe\) forskjellige exoner i ulike mutasjoner og mutasjonstyper.](#)

De fleste pasienter har en delesjon, og fordi disse samler seg i klynger (en hotspot), vil «skippingen» av [noen exoner ha effekt hos flere pasienter, enn skipping av andre exoner](#). En bilde-presentasjon av exonene i dystrofinengen er tilgjengelig [her](#). En mer omfattende diskusjon om exon-skippping, inkludert bilder som viser hvordan det fungerer, er tilgjengelig [her](#). Til sist er «[DOVE](#)-verktøyet» et godt hjelpemiddel for å finne ut

hvilket exon som må hoppes over ved de forskjellige mutasjonene.

Exon-skiping kan være gunstig for de fleste mutasjoner, men det er noen [unntak](#).

**Exon 51-skiping** Exon 51-skiping-behandling passer som behandling av den største gruppen av DMD-pasienter. Derfor har utvikling av AONs rettet mot exon 51 kommet lengst. Et AON-preparat som består kjemisk av morpholino (PMO) kalles eteplirsen. Dette preparatet har fått [hurtig](#)-godkjenning fra FDA i USA. Den europeiske godkjenningsmyndigheten, EMA, avventer godkjenning: Komiteen for vurdering av medikamenter for bruk av mennesker (CHMP) i EMA [ga](#) negativ vurdering i juni 2018. Sarepta har anket avgjørelsen og revurdering pågår.

**Kliniske studier med Eteplirsen:** Eteplirsen, eller Exondys51, er altså en PMO AON rettet mot Exon 51. Preparatet må gis som intravenøs infusjon. Eteplirsen ble [testet](#) på 19 pasienter i forskjellige doser opptil 20 mg / kg. Siden ikke alle pasientene i denne studien reagerte like godt, ble det [gjennomført](#) en liten oppfølgingsstudie med 12 pasienter som fikk to høyere doser. Det ble påvist at dystrofin lot seg gjenopprette hos alle pasienter etter 24 ukers behandling med eteplirsen i denne studien. Pasientene har nå blitt behandlet i 188 uker. De 10 deltakerne som fremdeles hadde gangfunksjon, hadde mindre tilbakegang enn forventet, målt ved 6 minutters gangtest, sammenlignet med naturlig utvikling av sykdommen uten behandling (dette bør tolkes med forsiktighet gitt det lille deltakerantallet).

En [fase 3-studie](#) pågår for tiden i USA. Deltakerne, som er gående pasienter, får ukentlig intravenøs dosering med 30 mg/kg Eteplirsen, og blir testet i 96 uker. Dette er en åpen studie hvor pasienter med mutasjoner som er egnet til exon 51-skiping-behandling, får behandling. Pasienter med andre typer mutasjoner brukes som kontrollgruppe. Kontrollgruppen er viktig for å kunne sammenligne funksjon og kontrollere sikkerhet. I tillegg har det vært initiert åpne forsøk i USA med helt [unge pasienter](#) (under 6 år) og hos pasienter med [begrenset](#) eller [ingen gangfunksjon](#). I forsøket med de små barna brukes også en kontrollgruppe som har mutasjoner som ikke er mottakelig for exon skiping 51-behandling.

FDA i USA kunngjorde 19. september 2016 at Eteplirsen fikk hurtig-godkjenning. Godkjenning ble gitt basert på at det ble påvist litt økt dystrofin i muskelbiopsier hos behandlede pasienter. FDA presiserte at funksjonelle effekter ennå ikke er påvist. Derfor må Sarepta påvise kliniske fordeler (bedre funksjonsnivå) i de kliniske studiene som pågår innen 2021.

### **Andre studier med Exon 51-skiping**

Eteplirsen gir bare små forbedringer i dystrofinuttrykk. Derfor er det behov for andre og bedre AON-forbindelser. Sarepta tester for øyeblikket en form for eteplirsen som er knyttet til et peptid-konjugat som skal forbedre AON-opptaket i vev (såkalt pPMO). I tillegg har Wave Therapeutics initiert en exon 51-skiping-studie med en ny AON-type.

### **Mutasjonsspesifisitet:**

AONer som kan «skippe» eller hoppe over forskjellige exoner blir av myndighetene ansett som ulike preparater. Dette betyr at å utvikle AONer rettet mot ulike exoner er svært kostbare og tidkrevende, fordi alle må gjennomgå mange stadier av preklinisk og klinisk testing.

Forhåpentligvis vil utviklingen av AONer bli raskere etter de to eller tre første. TREAT-NMD koordinerer en diskusjon om dette mellom reguleringsmyndighetene på vegne av exon-skiping-forskere, klinikere, industri og pasientorganisasjonene. [Det ble avholdt et slikt diskusjonsmøte 29. april 2015.](#) Resultatene er presentert i en [publikasjon](#) som nå er tilgjengelig ([gratis kopi finner du her](#)).

### **Utvikling av AONer rettet mot andre exoner:**

Sarepta har gjennomført en fase 1-2 studie for PMOer rettet [mot exon 53](#) (golodirsen, i samarbeid med Francesco Muntoni i London). Etter 48 ukers behandling ble det [påvist](#) økt dystrofinuttrykk på ca 1%. Basert på dette vil Sarepta [søke](#) om FDA-[godkjenning](#) for golodirsen i 4. kvartal 2018.

Sarepta har [startet](#) en placebokontrollert fase -3 studie over 96 uker for å teste AONer for exon 45 (casimersen) og 53.

Nippon Shinyaku (Japan) har ledet en [klinisk studie](#) i Japan med PMOer for exon 53-skiping i Japan og for gående med DMD i USA. Etter 24 ukers behandling med høye doser (40 og 80 mg/kg) ble det observert opp til 5% dystrofin i muskelbiopsi. Daiichi Sankyo tester også

AONer sammen med [ENA-sammensetninger](#) mot exon 45 i Japan.

**Kliniske studier med drisapersen:**

2OMePS AON for exon 51-skiping heter Drisapersen eller Kyndrisa. Alle pasientene som deltok i en tidlig studie med subkutan-injeksjoner, ble også registrert i en åpen utvidet studie hvor de mottok ukentlig behandling med Drisapersen. Pasientene ble behandlet i mer enn 6 år (inkludert behandlingsavbrudd). For 8 av 10 pasienter som fortsatt er gående ved starten av forlengelsesstudien, har 6 minutters gangtest blitt stabilisert, mens man uten behandling ville forutsi en tilbakegang. Studien mangler en kontroll-gruppe, og derfor bør disse resultatene tolkes med forsiktighet.

GlaxoSmithKline (GSK) hadde lisensiert Drisapersen, fra Prosensa og har koordinert flere studier. I alle forsøkene med bruk av subkutan injeksjon av Drisapersen, ble det observert reaksjoner på injeksjonsstedet og proteinuri hyppigere hos Drisapersen-behandlede pasienter enn placebobehandlede pasienter. En studie som sammenlignet forskjellige [doseringsregimer](#) er gjennomført med pasienter som var i et relativt tidlig stadium av sykdommen. Denne studien involvert 54 pasienter som fikk enten placebo, ukentlig eller et periodisk subkutan behandling med Drisapersen i 48 uker. Begge gruppene som fikk behandling gikk omtrent 35 meter lengre enn placebobehandlede pasienter i 6 minutters gangtest.

En studie som sammenlignet ulike doser er gjennomført med pasienter som var i et tidlig sykdomsstadium (deltakerne kunne reise seg opp fra gulvet på 15 sekunder). Pasienter fikk 3 eller 6 mg / kg Drisapersen eller placebo i 24 uker. Etter 24 uker viste det seg at pasienter behandlet med 6 mg / kg kunne gå 27 meter mer enn pasienter behandlet med placebo eller 3 mg / kg.

[En placebokontrollert fase 3-studie](#) ble startet i 2011 for å teste sikkerheten og effektiviteten av behandlingen med Drisapersen hos 186 gående pasienter. Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i distansen deltakerne kunne gå på 6 minutter når man sammenlignet placebo- og Drisapersen-behandlede pasienter etter 48 uker. I mellomtiden har GSK returnert lisensen for å utvikle Drisapersen til Prosensa og Prosensa har blitt overtatt av BioMarin.

Prosensa / Biomarin har analysert de sammensatte resultatene i de systemiske studiene og utvidelsesstudiene. Resultatene tyder på en langsommere sykdomsprogresjon hos behandlede yngre pasienter, men også eldre pasienter som behandles i 24 måneder. Basert på disse dataene har de søkt om [hurtig-godkjenning hos](#)



[Food and Drug Administration](#) i USA, og for [markedsføringstillatelse for Europa ved European Medicine Agency](#) i 2015. Videre har de startet fasevis redosering av pasienter i åpne utvidelsesstudier med Drisapersen (som ble stoppet etter at resultatene fra fase 3-studien ble rapportert). FDA rapporterte den 14. januar 2016 at Drisapersen ennå ikke er klar for godkjenning.

Den 31. mai 2016 kom [BioMarins](#) kunngjøring om tilbaketrekking av søknaden sin om godkjenning i Europa (EMA). De har avbrutt utviklingen av drisapersen og også andre AONer som var under utvikling rettet mot exon 44, 45 og 53. Nå arbeides det med å utvikle mer effektive og sikrere exon-skiping-preparater.

## Medikamenter for stoppkodon-gjennomlesing

### Ataluren and gentamycin

**Bruksområde:** Disse preparatene fungerer bare for pasienter med "stoppesignal"-mutasjon. Slike mutasjoner påvirker ikke den genetiske koden, men stoppesignalet gjør at proteinet som skal dannes blir ufullstendig. Stoppsignalet betyr at oversettelsen til proteinet er fullført, selv om slutt-stoppkodon ikke er nådd. Dermed får man produsert et kortere protein. Ca 10-15% av Duchenne-pasientene har en slik mutasjon. Legemidlene kan også være gunstige for individer med stoppkodoner i andre gener (for eksempel cystisk fibrose- pasienter).

**Formål:** Å tvinge cellen til å ignorere den muterte stoppkodon og dermed produsere et komplett dystrofinprotein.

**Bakgrunn:** Alle gener har et startsignal og et stoppsignal, slik at maskineriet som oversetter gener til proteiner vet hvor de skal begynne og hvor de skal slutte. Noen ganger kan en liten mutasjon introdusere et stoppsignal innenfor genet (i tillegg til det på slutten). Normale stoppsignaler skiller seg vanligvis litt fra disse muterte stoppesignalene (sammenlign det med et stoppesignal som er plassert på en sidevei (normalt stoppsignal) med ett på en motorvei (mutert stoppesignal)). Cellen følger stoppesignalet og stopper i begge tilfelle. Medikamenter kan undertrykke virkningen av disse muterte stoppkodonene, uten å påvirke de normale stoppkodonene. Gentamycin (et antibiotikum av

animoglykosidtypen) var det første medikamentet som man testet på dyrkede celler og i Duchenne-musemodeller.

**Kliniske forsøk:** Gentamycin har [blitt testet](#) på Duchenne-pasienter, men har aldri gitt overbevisende funn av «reparert» dystrofinprotein.

**Utfordring 1:** I tillegg til lite effektiv virkning, er gentamycin også giftig når det brukes i lengre perioder (det kan skade ører og nyrene).

**Løsning 1:** Et stort antall medikamenter er undersøkt for å finne et medikament som var i stand til å tvinge celler til å ignorere muterte stopp-kodoner uten samtidig å ha toksiske bivirkninger. Dette legemidlet kalles [PTC124](#) eller [ataluren](#) eller Translarna™ og er utviklet av PTC Therapeutics (USA). Det kan tas oralt og viste resultater i form av reparert dystrofinprotein i dyrkede celler og i forsøk med mdx musemodellen.

**Kliniske studier:** Ataluren viste seg å være trygt i bruk hos friske deltakere. Den [første studien](#) med Duchenne-pasienter, der pasientene fikk behandling i 4 uker med forskjellige daglige doser Ataluren [viste](#) at behandlingen var godt tolerert, og det ble påvist økning av dystrofin. Lengre [studier for å teste](#) om behandlingen også resulterer i funksjonell forbedring etter lengre tids behandling har blitt gjennomført ved flere sentre i USA og Europa.

Dessverre førte ikke behandlingen til overbevisende funksjonell forbedring etter 6 minutters gangtest sammenlignet med placebobehandlede pasienter, derfor ble forsøkene satt på [vent](#). Pasienter involvert i disse forsøkene i [USA](#) og Europa kan registrere seg i en [åpen studie](#).

Etter en detaljert [analyse av dataene](#) og deretter optimalisering av dosering, har en ny, fase 3-studie med 220 DMD-pasienter blitt [fullført](#) i Nord- og Sør-Amerika, Asia, Australia og Europa. Translarna-behandlede pasienter klarte å gå gjennomsnittlig 15 meter lengre på 6 minutter sammenlignet med placebo-behandlede pasienter. I en forhåndsdefinerte gruppe med pasienter (som kunne gå mellom 300 og 400 meter i 6 minutters gangtest ved forsøkets start) gikk Translarna-behandlede pasienter 47 meter lenger enn pasienter behandlet med placebo. Translarna-behandlede pasienter presterte også bedre i andre funksjonstester. Som tidligere var Translarna godt tolerert med lite bivirkninger.

PTC søkte FDA i USA om hurtig-godkjenning i januar 2016. FDA sendte et «nei til saksbehandling»-[brev](#) til PTC i februar 2016, og ga beskjed om at resultatene som foreligger ikke er tilstrekkelig til å anbefale en FDA-gjennomgang. PTC har anket denne avgjørelsen, og [FDA planla](#) et rådgivende utvalgsmøte, og etter det møtet har de informert PTC om at ataluren ikke vil bli godkjent basert på tilgjengelig dokumentasjon.

**Markedsførings-  
tillatelse:** PTC Therapeutics ble gitt markedsføringstillatelse til Translarna (ataluren, tidligere kjent som PTC124) av Europa-kommisjonen i august 2014. Translarna er godkjent i Europa for behandling av gående pasienter i alderen 2 år og eldre, som har Duchenne muskeldystrofi forårsaket av en nonsense-mutasjon i dystrofingenet.

Godkjenningen og begrensningene evalueres årlig og ble forlenget i 2015, og igjen i november 2016, da resultatene fra den første bekreftende studien var tilgjengelige. [EMA](#) ba om ytterligere en bekreftende studie fra PTC i november 2016.

I 2018 ble kriteriene for tillatelse til behandling [utvidet](#) fra 5 år og eldre til 2 år og eldre. Dette som resultat av at PTC viste at det var sikkert å behandle barn mellom 2 og 5 år også.

I Europa er nå Translarna tilgjengelig i Tyskland, Østerrike, Danmark, Norge og Storbritannia. Frankrike, Italia og Hellas har såkalt "early access"- program. Utenfor Europa har Translarna fått godkjenning for bruk i Israel, og er også tilgjengelig i Tyrkia, Brasil og Colombia. Listen over land vil øke, og tilgjengeligheten av Translarna bør sjekkes med firmaet PTC ([medinfo@ptcbio.com](mailto:medinfo@ptcbio.com)).