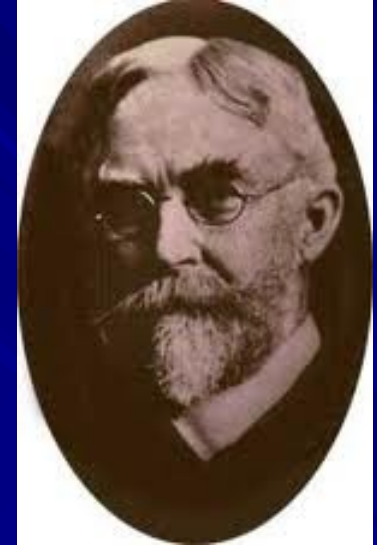


CHOROBA HUNTINGTONA MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNE

Zakład Genetyki
Instytut Psychiatrii i Neurologii, Warszawa
Iwona Stępniaik

Choroba Huntingtona (HD)

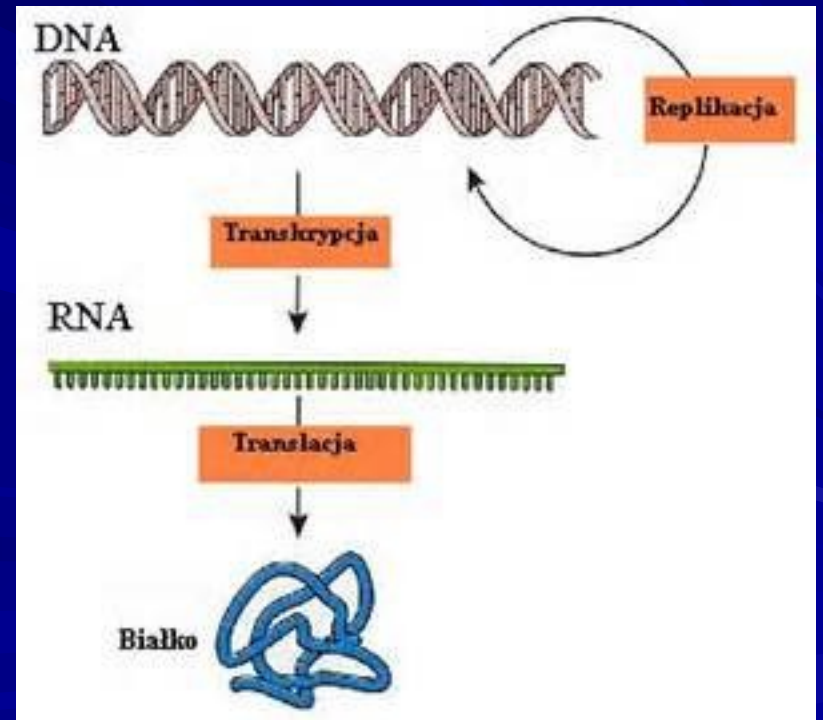
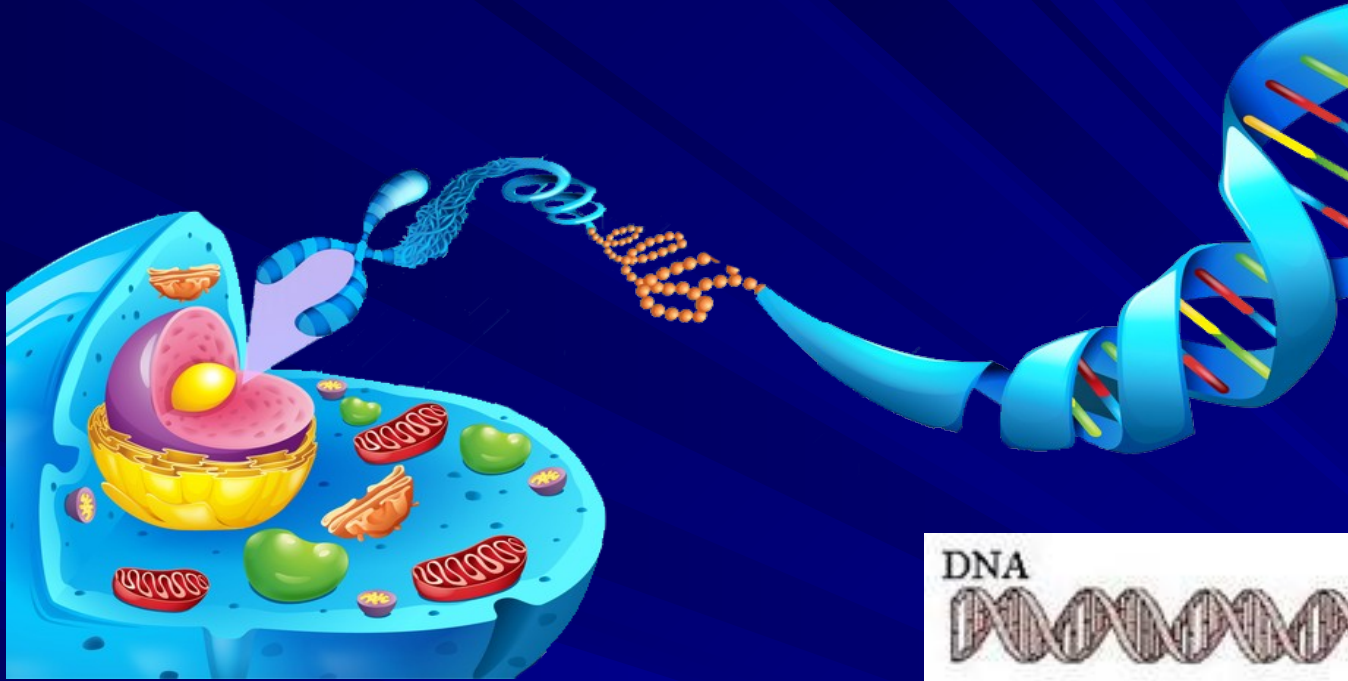
- choroba zwyrodnieniowa OUN o podłożu genetycznym, dziedziczona AD
- 4.1 - 8.4 / 100 tys USA
- 1.63 – 9.95/ 100 tys Europa
- 1872 – opis kliniczny, George Huntington



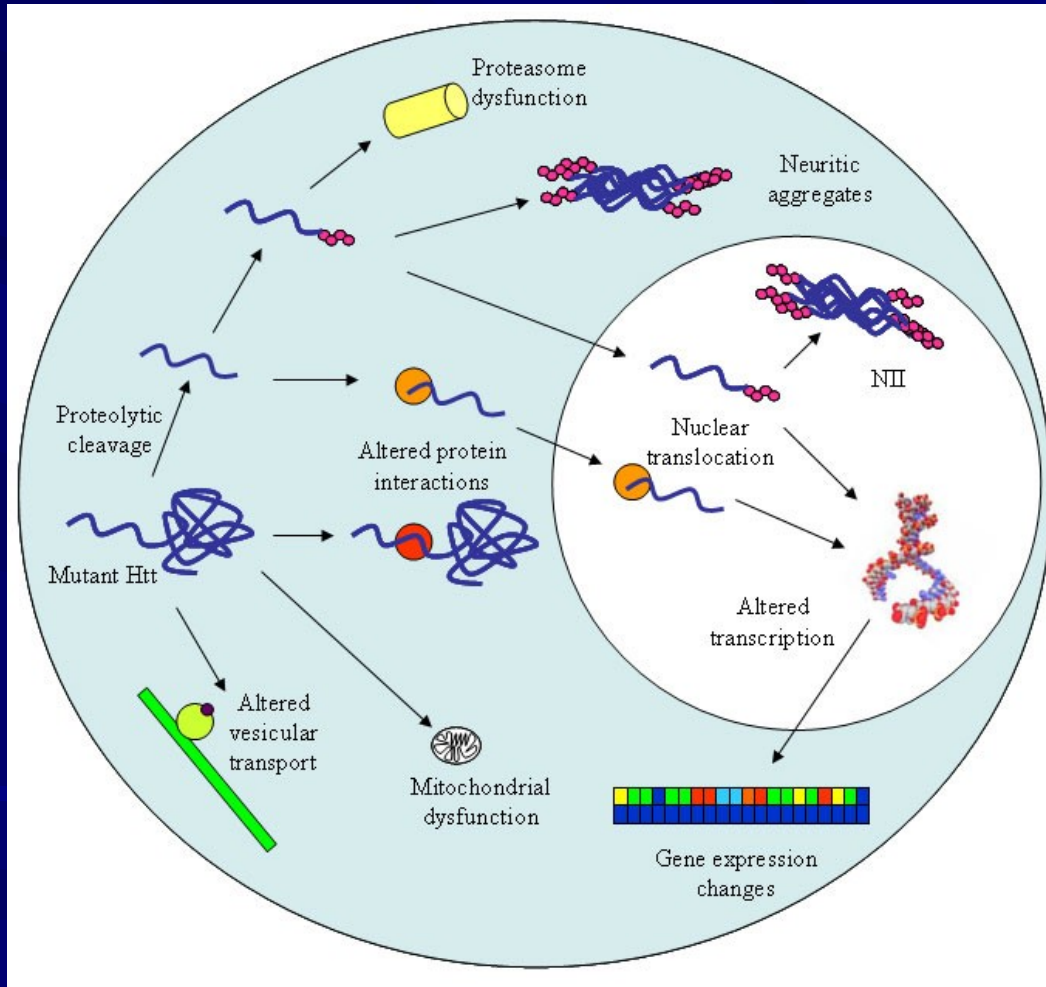
On chorea” w Medical and Surgical Reporter

- 1983 – odkrycie locus na chromosomie 4
- 1993 – identyfikacja genu i mutacji: ekspansja CAG (James Gusella) → wydłużenie łańcucha poliglutaminowego w białku kodowanym przez gen *HTT* (huntingtynę)

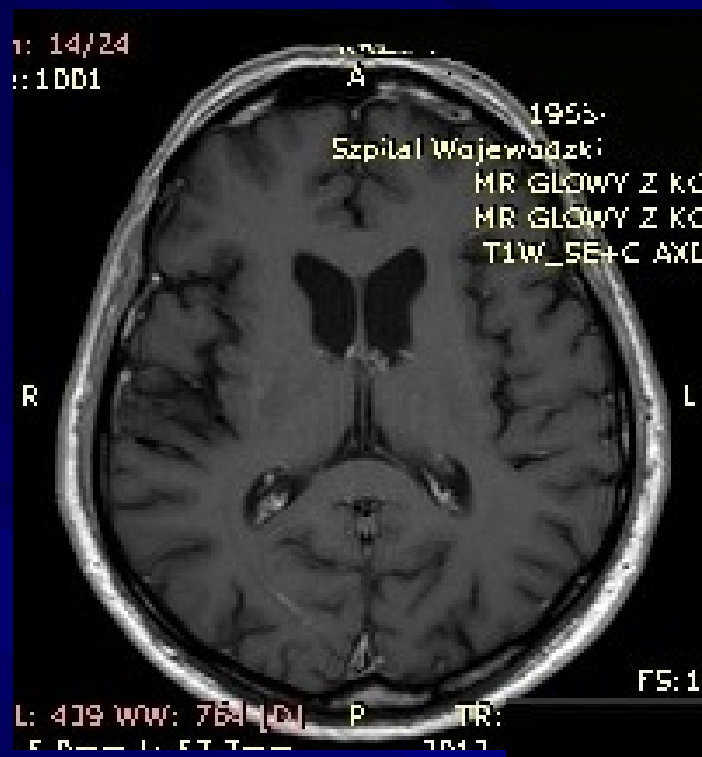
Kodowanie białka w komórce



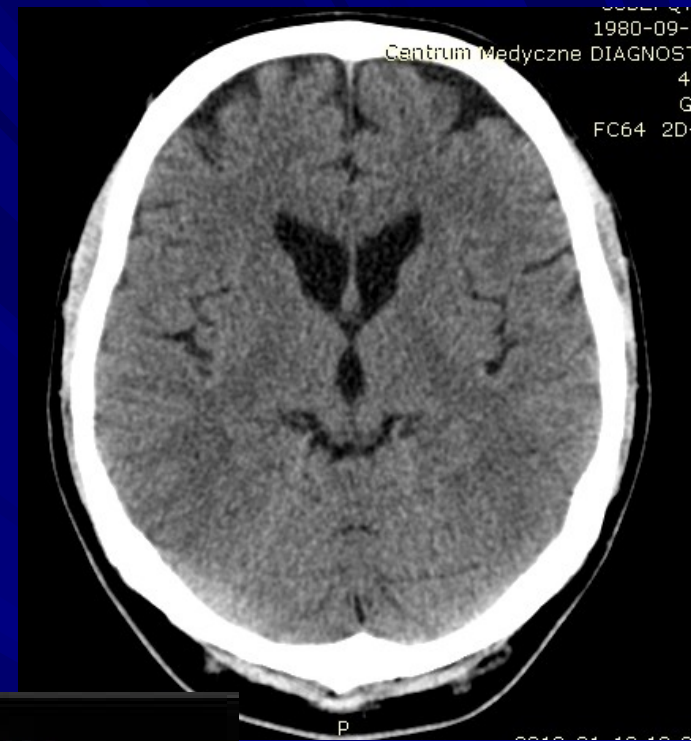
Mechanizmy patologiczne w HD



- ekscytotoksyczność
- dysfunkcja mitochondriów
- aktywacja kaspaz
- apoptoza
- gromadzenie nierozpuszczalnych agregatów
- dysfunkcja synaptyczna
- autofagia
- transkrypcyjna dysregulacja
- dysfunkcja proteasomów
- zaburzenie homeostazy Ca



MRI HD



CT HD



Ryc. 3. Półkule mózgowe człowieka zdrowego (z lewej) i z zaawansowaną formą choroby Huntingtona (z prawej). Na zdjęciu zaznaczono ośrodki kontrolujące ruchy i napięcie mięśni

Złożoność problemów oraz zróżnicowanie konstelacji objawów implikuje postępowanie:

- indywidualne podejście do każdego pacjenta

uwzględnienie objawów wiodących i stygmatyzujących (wywiad od rodziny)
dobór leku działającego jednocześnie na kilka objawów występujących u chorego
monitorowanie leczenia (działania niepożądane, EKG, badania laboratoryjne)
modyfikacja terapii w miarę postępu choroby

- zastosowanie różnych form terapeutycznych

leczenie farmakologiczne
rehabilitacja ruchowa, logopedyczna
ćwiczenia funkcji poznawczych
zalecenia dietetyczne

- konieczny zespół specjalistów

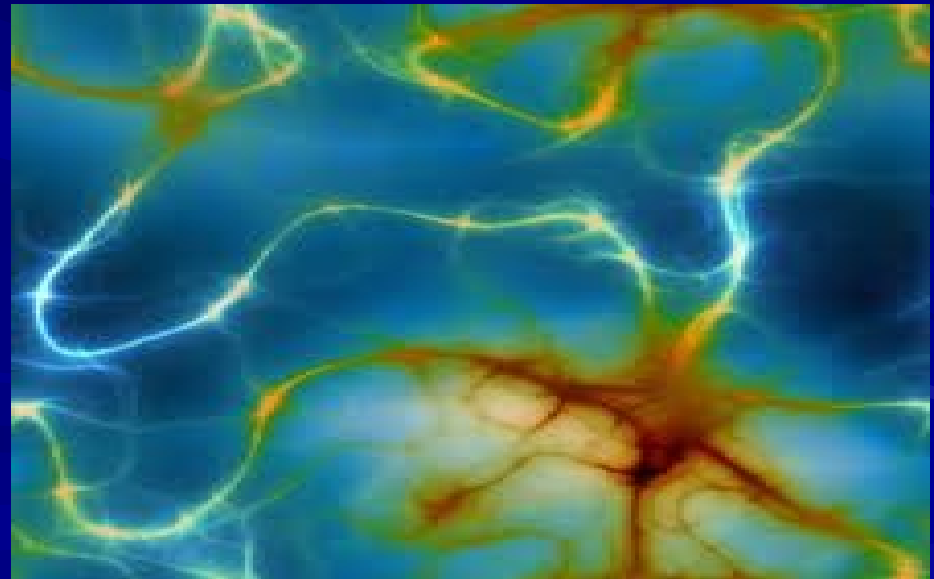
genetyk
neurolog
psychiatra
psycholog
fizjoterapeuta
logopeda
dietetyk

- wsparcie dla rodziny chorego



Objawy ruchowe HD

- ruchy mimowolne o różnym nasileniu, początkowo niezwracające uwagi, z czasem bardzo upośledzające funkcjonowanie, chód taneczny (częste upadki – 60% pacjentów) **Ograniczona samoświadomość objawów ruchowych**
- trudność w utrzymaniu wykonywanego ruchu (objaw dojarki)
- objawy mózdkowe (zaburzenia chodu, niezbornosć ruchów)
- dyzartria → anartria
- dysfagia
- zaburzenia ruchów gałek ocznych
- spowolnienie ruchowe
- sztywność pozapiramidowa
- padaczka (rzadko)



Farmakoterapia objawów ruchowych

Amerykańska Akademia Neurologii –
wytyczne dotyczące leczenia
farmakologicznego płasawicy w HD,
2012

- analiza 424 doniesień,
33 badań klinicznych
- ocena wpływu leków na nasilenie objawów ruchowych w skali UHDRS (Unified Huntington Disease Rating Scale)
- rzetelne badania – jedynie kilka leków: tetrabenazyna, amantadyna, riluzol, nabilon, klozapina, donepezil, kreatyna, koenzym Q10, minocyklina



Farmakoterapia objawów ruchowych



- Lekiem o najlepiej udokumentowanej skuteczności p/pląsawiczej okazała się tetrabenazyna, 100mg/24h: redukcja nasilenia pląsawicy o 5kt (28pkt podskala UHDRS)
- Riluzol 200mg/24h, ↓ 2.2pkt – gł. dział. niepoż. – uszkodzenie wątroby
- Amantadyna 300-400mg – redukcja pląsawicy nieznaczna (18%) – nieznacznie poprawia jakość życia i ogólną sprawność pacjenta
- Nabilon- syntetyczny kanabinoid redukuje w niewielkim stopniu nasilenie pląsawicy – o 1.7pkt, brak danych dot. długotrwałego stosowania

Farmakoterapia objawów ruchowych

Inne leki w/w klozapina, donepezyl, kreatyna, koenzym Q10, minocyklina – nie udowodniono skuteczności lub brak jasnych wniosków z przeprowadzonych badań

Wytyczne nie uwzględniają powszechnie stosowanych leków: olanzapina, haloperidol, sulpiryd, risperidon, kwetiapina (brak badań)

Stąd użyteczne są badania ankietowe, prowadzone wśród specjalistów zajmujących się leczeniem HD



Dane z badań ankietowych, kolejność wg częstości stosowania w płąsawicy

lek	Zakres dawek
risperidon	0.5-2mg, max 16mg
olanzapina	2.5-10mg, max 20mg
tiaprid	50-200mg, max 900mg
haloperidol	0.5-2mg, max 10mg
kwetiapina	25-200mg, max 400mg



Tetrabenazyna

- Wskazania: Hiperkinetyczne zaburzenia ruchowe w HD
- Przeciwwskazania:
 - depresja, myśli „S”
 - spowolnienie ruchowe i sztywność mięśni
 - guz chromochłonny
 - guzy prolaktynozależne (np. guz przysadki mózgowej, rak piersi)
 - jednoczesne stosowanie rezerpiny
- Nie łączyć z alkoholem

















Tetrabenazyna – działania niepożądane

- najczęstsze: senność (31%), zmęczenie (22%), objawy pozapiramidowe (15%), bezsenność (22%), lęk (15%), depresja (19%)
- ciężkie – rzadko: złośliwy zespół neuroleptyczny, ostre reakcje dystoniczne, dysfagia

- eliminacja działań niepożądanych przez zmniejszenie dawki



Tetrabenazyna

	Krok 1	Krok 2	Krok 3	Krok 4	Krok 5	Krok 6
Rano						
Południe						
Wieczór						
Dawka całkowita	12,5 mg	25 mg	37,5 mg	50 mg	62,5 mg	75 mg

- stopniowe zwiększanie dawki do uzyskania zadawalającego efektu klinicznego lub pojawienia się działań niepożądanych, których nie toleruje pacjent
- zwiększanie o 12.5 mg co 3-4 dni
- przedział 25-200mg, zwykle 75mg

Leczenie innych objawów ruchowych

Sztywność i bradykinezja –
L-Dopa (JHD)

Dystonia – toksyna botulinowa

Mioklonie – kwas walproinowy,
lewetyracetam
klonazepam

Zaburzenia chodu - fizjoterapia



Leczenie HD

Dyzartria i dysfagia – ćwiczenia logopedyczne

Nasilona dysfagia – gastrostomia

Ubytek masy ciała – wysokokaloryczna, zbilansowana dieta



Objawy neuropsychiatryczne



- zaburzenia poznawcze (uwaga, f. wykonawcze: ustalanie celu działania, planowanie i organizacja kolejnych etapów działania, niedostrzeganie błędów, brak elastyczności myślenia, spowolnienie uczenia się) → otępienie
- zaburzenia kontroli emocji, labilność emocjonalna, drażliwość i zaburzenia zachowania, agresja, autoagresja
- depresja – często wyprzedza o.ruchowe, 60% pacjentów; ryzyko „S” wzrasta 6-krotnie v populacja ogólna
- apatia, brak inicjatywy w działaniu
- zaburzenia obsesyjno-kompulsyjne
- objawy psychotyczne (omamy, urojenia) – 30% chorych

Leczenie objawów neuropsychiatrycznych

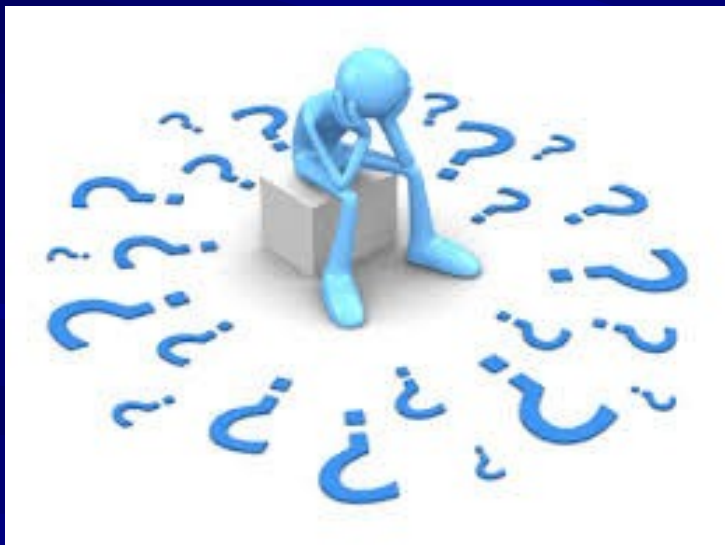
Zaburzenia poznawcze

brak skutecznej terapii
(badania – brak skuteczności:
donepezyl, riwastygmina,
latrepirydyna)



Depresja

SSRI (citalopram, sertralina,
fluoksetyna)
SSNRI (wenlafaksyna)



Leczenie objawów neuropsychiatrycznych

Drażliwość – leczenie I rzutu w zależności od nasilenia drażliwości i obecności objawów towarzyszących (neuroleptyki, SSRI, leki p/padaczkowe)

**Lęk, zaburzenia snu
atypowe neuroleptyki, gł kwetiapina**

**Zaburzenia zachowania, agresja
kwetiapina, klozapina, inne neuroleptyki
(tiapryd, sulpiryd)**

**Zaburzenia obsesyjno-kompulsywne
SSRI (citalopram, sertralina, fluoksetyna,
fluwoksamina) lub
trójcykliczne leki p/depresyjne
(klomipramina),
+ ew. neuroleptyki, benzodwiazepiny**

**Zaburzenia psychotyczne
kwetiapina, klozapina,
inne neuroleptyki**



Tetrabenazyna (Tetmodis) - R

Olanzapina – R

kwetiapina – R 25mg (rp zaburzenia psychiczne w przebiegu otępienia)

Haloperidol - 30%

leki p/depresyjne – 30% (rp. depresja)





Jaka jest przyszłość

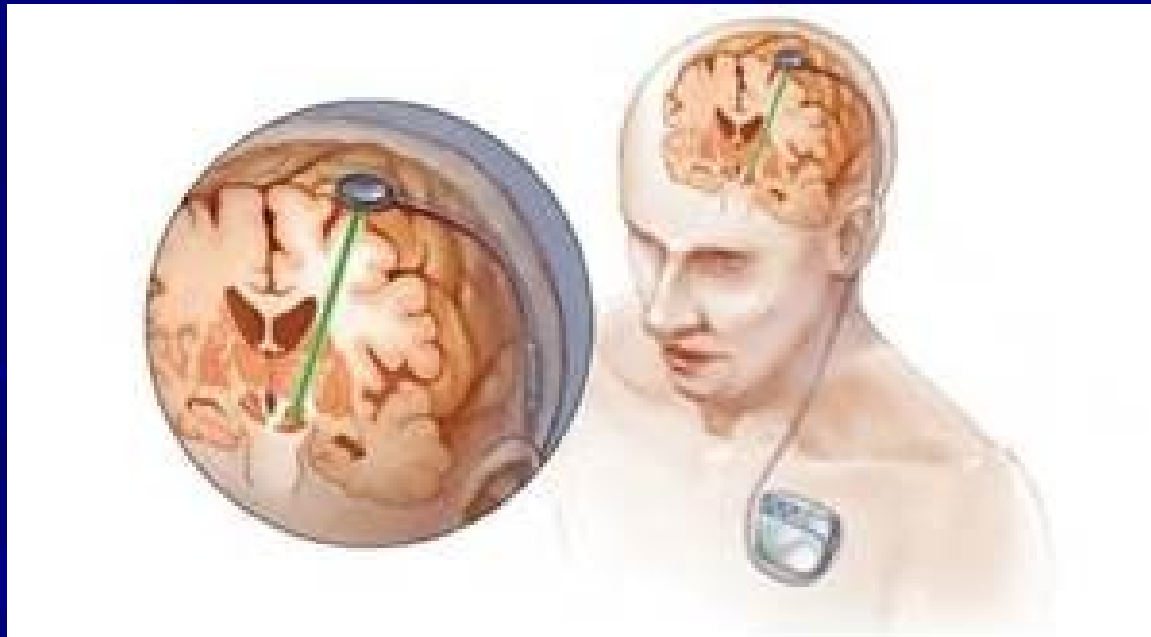
Badania kliniczne leków redukujących zaburzenia ruchowe

- badanie z pridopidyną/placebo (wiele krajów, także Polska)
- badania z lekiem SD-809 ER (podobnym do tetrabenazyny) (USA I Kanada)
- badanie porównawcze olanzapiny, tetrabenazyny i tiapridu (Francja)



DBS

- głęboka stymulacja mózgu - terapia eksperymentalna, różne targety anatomiczne (gałka biała, gł cz wewnętrzna) – wyniki niejednoznaczne, poprawa w zakresie ruchów płasawicznych
- badanie nad zastosowaniem głębokiej stymulacji mózgu (Niemcy 2012)



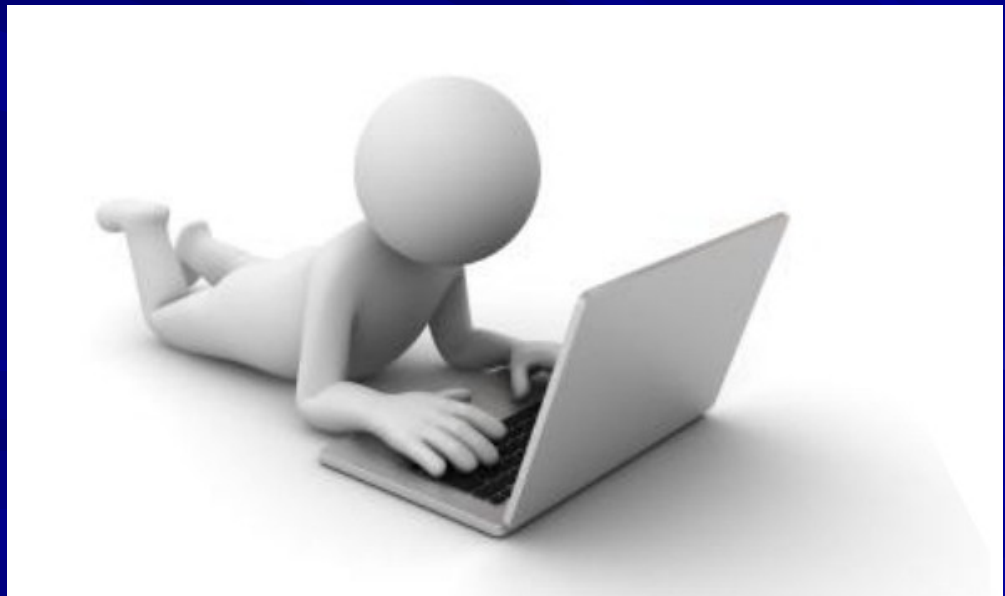
Leki redukujące inne objawy HD

- Badanie bupropionu w łagodzeniu apatii (Action-HD) (Niemcy)
- Badanie citalopramu w leczeniu depresji i poprawie funkcji wykonawczych (USA)



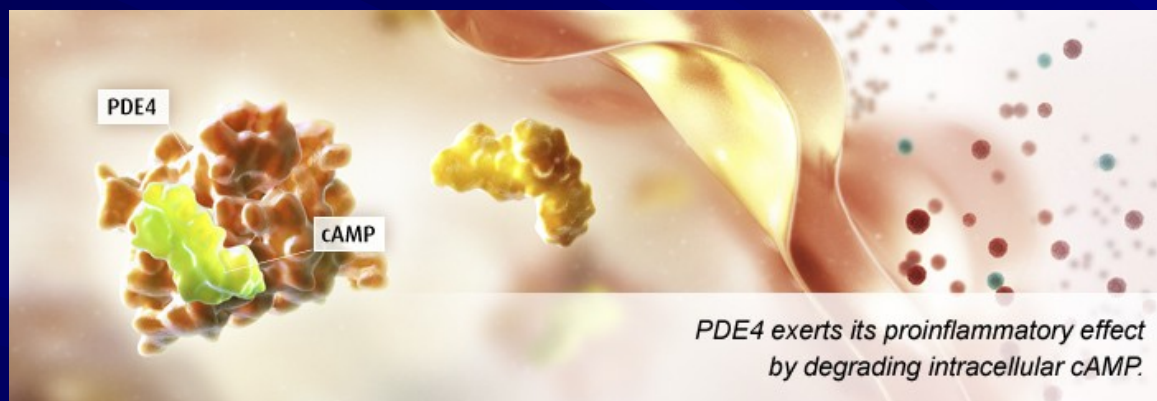
Badania uwzględniające fizykoterapię

- Trening zaburzeń równowagi przy pomocy technik komputerowych (USA)
- Muzykoterapia w ocenie jakości życia (USA)
- Wpływ ćwiczeń fizycznych na sprawność ruchową pacjentów z HD (Szwajcaria)

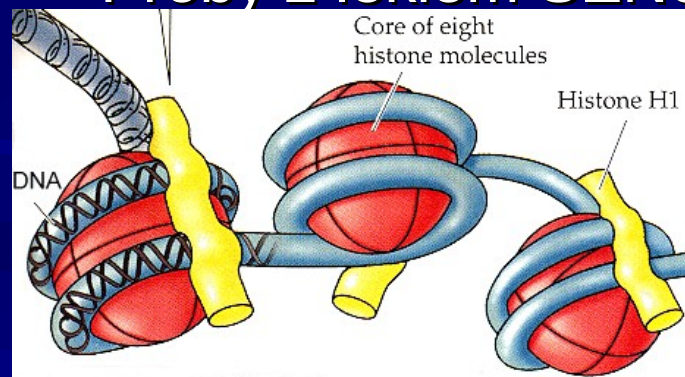


Leki neuroprotekcyjne

- próba z lekiem PF 0254920 i innymi inhibitorami PDE10 (USA)



- Próby z lekiem SEN0014196 (selisistat) (Nemcy, UK)



- Próby z memantyną

Leki wpływające na ilość energii w komórce

- Koenzym Q10 Badanie 2Care (USA). Bardzo duże dawki 2400 mg/d. Planowane zakończenie badania 2017 rok
- Badanie CREST-E (USA). Duże dawki kreatyny (40 g/dobę),
- Badanie ETON-HD (Niemcy) badanie z galusanem epigallokatechiny (EGCG) – badanie ukierunkowane na poprawę kłopotów z pamięcią



Nowe podejścia terapeutyczne

Przeszczepy komórek

- striatalnych komórek płodowych
- ludzkich embrionalnych komórek macierzystych
- ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych

Wpływanie na zmutowaną huntingtinę

- Zinc finger proteins
- Wykorzystanie zjawiska interferencji RNA (siRNA)
- ASO
- SNP



Metody zogniskowane na podłoże patologiczne

- ekscytotoksyczność (riluzol)
- aktywatory kaspaz (minocyklina)
- formacja agregatów (Congo red)
- akumulacja agregatów (trehalose)
- dysfunkcja mitochondriów (koenzym Q10)
- dysregulacja transkrypcji (Inhibitory deacetylaz histonów)

Przeszczepy komórkowe

- Skuteczność potwierdzono u gryzoni i ssaków naczelnych, także u ludzi, jednak badano bardzo małe grupy pacjentów → konieczność przeprowadzenia wieloośrodkowego badania, aby potwierdzić uzyskane wyniki

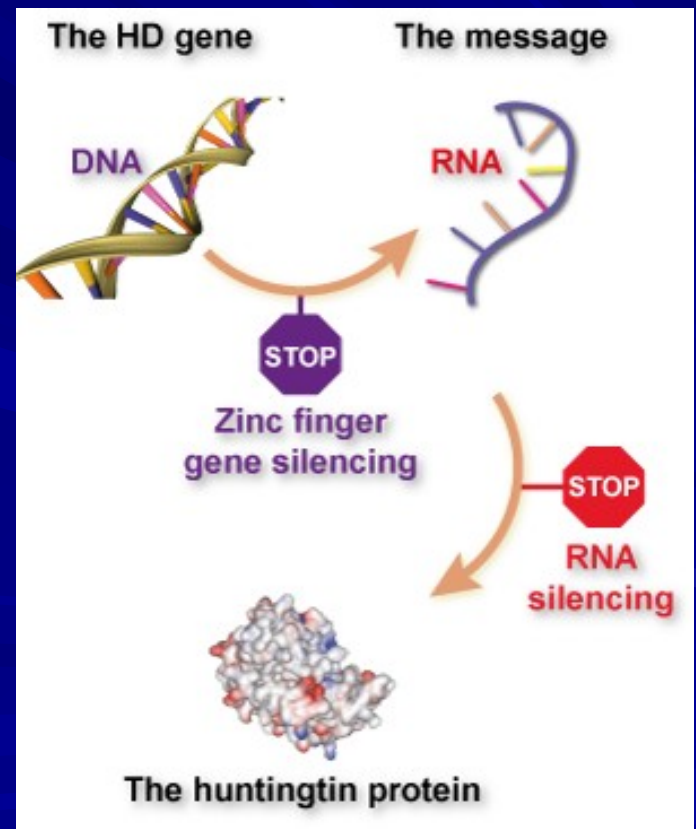
TRUDNOŚCI:

- Okno terapeutyczne (komórki płodowe, 7-10tydz)
- Problemy etyczne
- Dostępność tkanek
- Rozmiar przeszczepu – pokrywa ok. 4% objętości striatum
- Lokalny charakter przeszczepu, mutacja – cały mózg
- Zdarzenia niepożądane:
 - związane z procedurą neurochirurgiczną
(krwiak podtwardówkowy, krwiak wewnątrzmożgowy)
 - reakcje immunologiczne (tkanka allogeniczna)
 - infekcje
 - powstawanie torbieli, przerostu w tkance przeszczepionej
 - indukcja wzrostu teratoma (komórki pluripotencjalne)



Zinc finger proteins

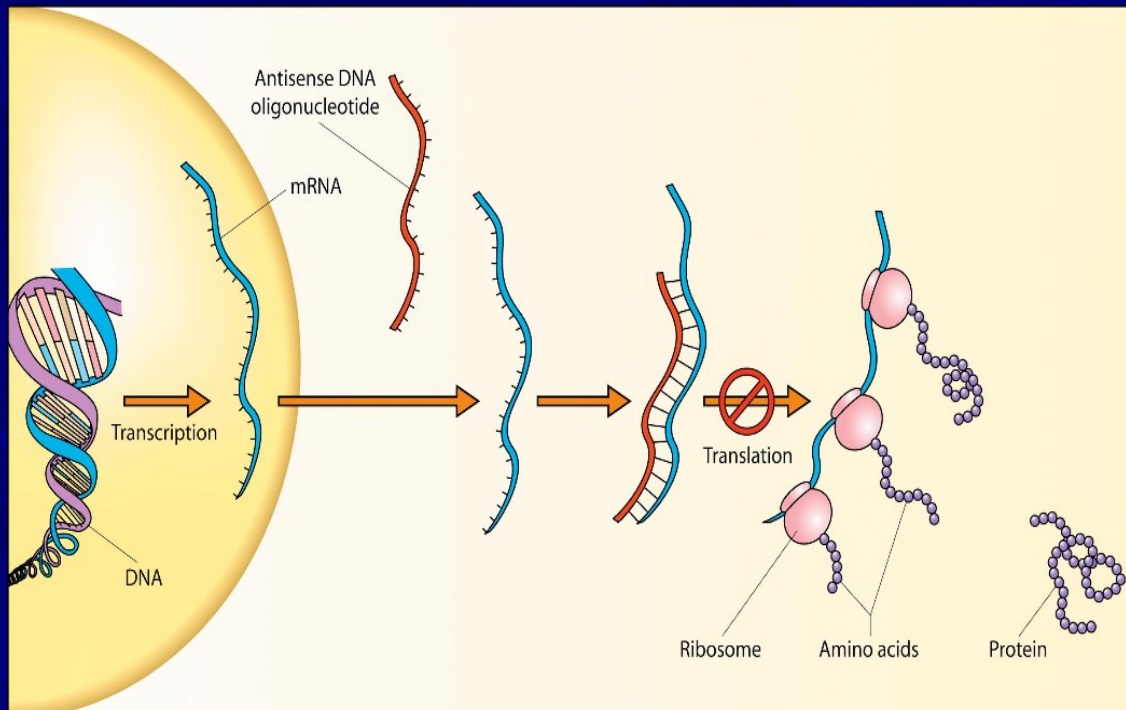
- Proteiny te należą do grupy **czynników transkrypcyjnych**, charakteryzują się zdolnością do wiązania określonych sekwencji DNA i regulacji ich aktywności
- **Nazywane palce cynkowe** ze względu na występowanie w ich strukturze charakterystycznych pętli stabilizowanych przez jony cynku. Właśnie te pętle, wchodzące w interakcję z ściśle określonymi sekwencjami zasad wchodzących w skład DNA, wiążą się z materiałem genetycznym i powodują jego aktywację (ekspresję)
- Leczenie w HD: Zinc finger proteins przyklejają się do odpowiednich sekwencji DNA przez co blokują powstawanie mRNA, a więc i powstawanie białka



Możliwe strategie wyciszenia genów

Antysensowne oligonukleotydy (ASO) – liczące ok. 20 nukleotydów, których sekwencja jest komplementarna do mRNA wycisanego genu; wyciszenie genu przez:

- blokada inicjacji i elongacji transkrypcji
- zaburzenie splicingu mRNA
- blokada odczytu informacji genetycznej przez rybosomy
- degeradację mRNA (aktywacja RNA-zy H)



Możliwe strategie wyciszania genów

Interferujący RNA (siRNA, small interfering RNA)

małe cząsteczki dwuniciowego RNA, które powodują wyciszenie ekspresji genów o homologicznej sekwencji przez:

- indukcję degradacji RNA
- blokowanie translacji

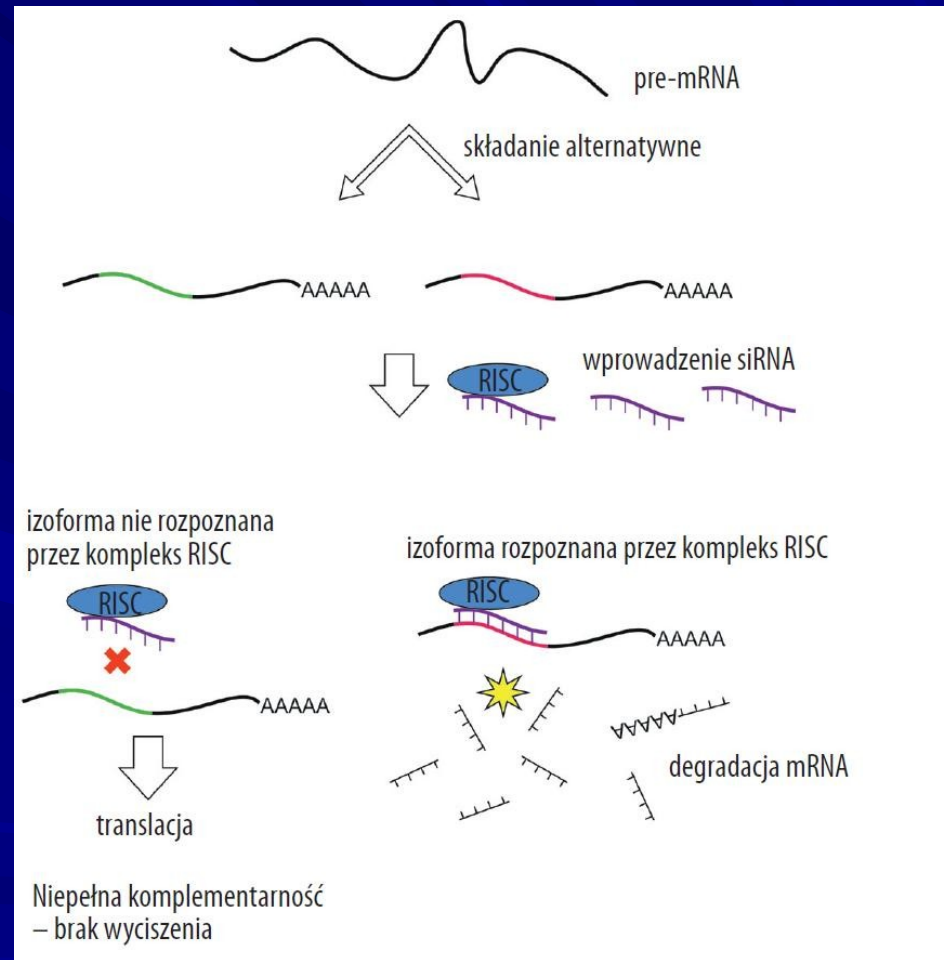
Badanie zakończone sukcesem z redukcją zmutowanej huntingtyny (mHTT) na modelu mysim HD, iniekcje do striatum z AAV: poprawa ruchowa, zm. patologiczne w komórce

Harper 2005

Badanie z podaniem dokomorowym, model mysim HD, spadek mHTT

Yu 2012

Wykorzystanie zjawiska interferencji RNA

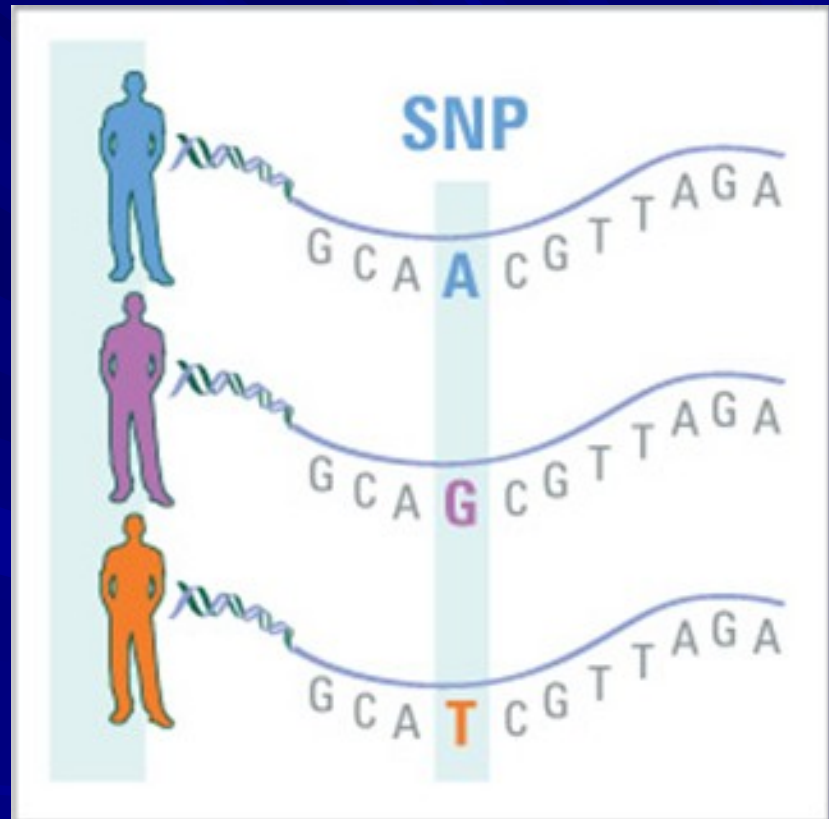


Możliwe strategie wyciszania genów

Polimorfizm pojedynczego nukleotydu (ang. Single Nucleotide Polymorphism w skrócie **SNP**) –

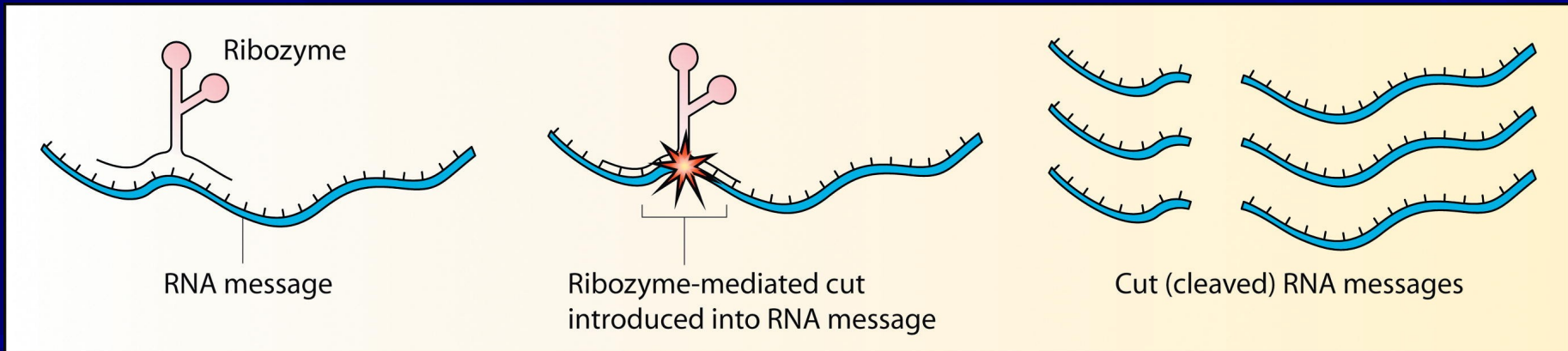
zjawisko zmienności sekwencji DNA, która polega na zmianie pojedynczego nukleotydu pomiędzy osobnikami danego gatunku lub drugim, odpowiadającym chromosomem danego osobnika.

Wiele SNPs znaleziono w genie *HTT* : allele zmutowane i niezmutowane wykazywały różne wzory zapisu



Możliwe strategie wyciszania genów

Rybozomy – krótkie cząsteczki RNA o właściwościach nukleolitycznych, które wiążą się do określonego fragmentu mRNA i przecinają wiązanie fosfodiesterowe w specyficznych miejscach, co powoduje hydrolizę cząsteczek mRNA kodujących niepożądany produkt białkowy



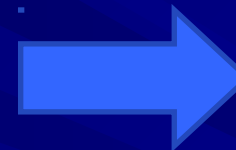
Wyzwania związane z terapią polegającą na wyciszaniu genów

- duża masa cząsteczkowa kwasów nukleinowych w porównaniu do konwencjonalnych substancji czynnych zawartych w dotychczas stosowanych lekach
- ujemny ładunek elektryczny kwasów nukleinowych



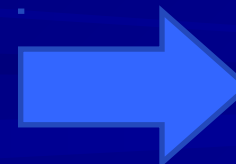
Znaczne utrudnienie przenikania przez błony komórkowe do wnętrza komórek

Konieczność wysokiej selektywności (precyzyjne dobranie sekwencji wprowadzonego kwasu nukleinowego)



Skuteczne hamowanie ekspresji genu odpowiedzialnego za wystąpienie schorzenia i jednocześnie nieuszkodzenie innych genów

Wrażliwość dwuniciowego siRNA na rozpad (np. pod wpływem temp), labilność i szybka degradacja na skutek działania rybonukleaz – enzymów hydrolizujących RNA



Utrata skuteczności terapeutycznej

Wyzwania związane z terapią polegającą na wyciszaniu genów

- Poprawa biodystrybucji i penetracji siRNA przez błony komórkowe
 - Zwiększenie powinowactwa do docelowej sekwencji mRNA
 - Uzyskanie/zwiększenie specyficzności tkankowej
 - Wzrost stabilności termicznej dwuniciowej formy siRNA
 - Zwiększenie odporności RNA na działanie rybonukleaz



Modyfikacje chemiczne cząsteczek siRNA

Wysoki koszt syntezy cząsteczek siRNA



Wyzwania związane z terapią polegającą na wyciszaniu genów

ASO - antysensowne oligonukleotydy

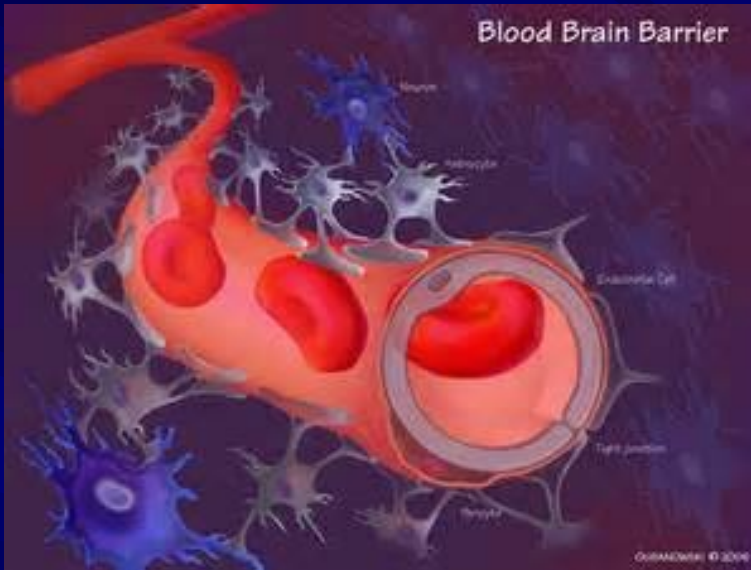
- cząsteczka zbudowana z DNA , które jest bardziej stabilne niż RNA
- dużo niższy koszt syntezy niż siRNA

- degradacja w komórce przez endo- i egzonukleazy

konieczność modyfikacji chemicznej



ASO, siRNA



Nie przechodzą przez barierę krew -mózg

Możliwe drogi podania

- z wykorzystaniem wektorów (wirusowych, lipidowych)
- do parenchymy mózgu
- dokomorowo
- do kanału kręgowego

Najczęstsze pytania





Instytut Psychiatrii i Neurologii
Zakład Genetyki
ul. Sobieskiego 9
02-957 Warszawa

www.ipin.edu.pl
tel. 22 21 82 230
22 45 82 610

faks +48 22 858 91 69

E-mail: stepniak.iwona@gmail.com
tel. +48 22 218 22 30





Dziękuję za uwagę