

## Zpráva z 8. plenárního setkání Evropské společnosti pro Huntingtonovu nemoc

Ve dnech 19.–21. září 2014 se konalo 8. plenární setkání pořádané Evropskou společností pro Huntingtonovu nemoc (European Huntington's Disease Network; EHDN) v Barceloně, Španělsko. Konference se zúčastnilo 913 vědců z Evropy a Ameriky, ale přijeli také pacienti s rodinami, a nechyběli ani zástupci společností jednotlivých zemí, např. Společnost pro pomoc při Huntingtonově chorobě z České republiky.

Všechny spojuje společný cíl: pomoci lidem postiženým Huntingtonovou nemocí (HN). HN je autosomálně-dominantní neurodegenerativní onemocnění, způsobené mutací v genu kódujícím protein huntingtin (Htt), ve kterém dochází k prodloužení úseku DNA obsahující opakovaní CAG tripletu. HN představuje nejčastěji se vyskytující vrozenou poruchu z tzv. polyglutaminových nemocí, kam mimo jiné patří spinobulbární muskulární atrofie a spinocerebelární ataxie. Hlavním tématem konference bylo hledání léčby, která by oddálila nástup onemocnění nebo zmírnila probíhající příznaky, dále hledání spolehlivých metod k měření efektivity léčby, ale i studiím periferních tkání.

### Hon za léčbou, oddálení klinického počátku, zmírnění symptomů

Ve vývoji nových léčiv nastal velký posun kupředu. Některé potenciální léky proti HN byly úspěšné při testování na zvířecích modelech a dostaly se do klinických studií, kde je v první fázi cílem zjistit jejich bezpečnost pro pacienty. Jedním ze slibných přístupů se zdá být snížení množství Htt v buňkách mozku. Nabízí se několik možných přístupů: antisense oligonucleotide (ASO), siRNA a RNA interference. Sarah Tabriziová (Státní nemocnice, neurologie a neurochirurgie, Londýn) představila ASO-HTT-Rx vyráběné farmakologickou firmou Isis, které degraduje mediátorovou RNA Htt a brání tak produkci jejího proteinu. Lék prokazuje slibné výsledky, u myšího modelu HN zpomaluje progresi onemocnění a prodlužuje život. V roce 2015 začne první klinická studie tohoto léčebného přístupu. Ralf Reilmann (Institut George Huntingtona, Univerzita v Mün-

steru) zmínil lék selisistat, inhibitor sirtuinu 1, vyvinutý firmou Siena Biotech, který chrání buňky před tvorbou agregátů mutovaného huntingtinu (mHtt). Tento lék se nachází již v klinické fázi 2. V preklinických studiích se objevily dva další nadějně léky chránící před hromaděním mHtt. Leslie Thompsonová (Kalifornská univerzita, Irvine) prezentovala inhibici enzymu PIAS1, který ovlivňuje sumoylaci, jednu z proteinových modifikací, jejíž zvýšení je součástí degradační dráhy mHtt. Další možností je injekce TriC chaperonového komplexu, který pomáhá správnému sbalení proteinu Htt a chrání tak buňky před jeho agregací.

Terapie mohou být zaměřeny i na procesy provázející HN. Jedním z nich je neinfekční zánětlivá reakce způsobená astrocyty a mikroglie aktivovanými přítomností mHtt. Ralf Reilmann se zmínil o léku laquinimod (projekt Legato-HD). Jedná se o imunologický modulátor. Bernhard Landwehrmeyer (Neurologická klinika, Univerzita v Ulmu) poukázal na lék pridopidin (studie Pride-HD), který potlačuje motorické symptomy a ovlivňuje uvolňování neurotransmiterů. Cristina Sampaiová (CHDI nadace, Princeton) promluvila o PDE10A inhibitech zlepšujících fungování synapsí a spojů mezi neurony. Všechny tři výše zmíněné léky se nacházejí ve druhé fázi klinického testování. Ladislav Mrzljak (CHDI nadace, Princeton) řekl, že fungování nervových spojení podporují také KMO (Kynurenine Mono-Oxygenase) inhibitory a na jejich základě byl vyvinut lék CHDI246, který byl prozatím testován jen na myším modelu a zlepšuje aktivitu mozku.

### Biomarkery – hledání spolehlivých metod k měření efektivity léčby

Úspěch klinických studií nezávisí pouze na hledání vhodného léku, ale také na získání spolehlivé metody pro měření jeho účinnosti. K tomu je důležité nalézt vhodný biomarker, který musí být objektivní, reprodukcibilní, snadno kvantifikovatelný a měřitelný v lehce dostupné tkáni či tělesné tekutině. Blair Leavitt (Centrum molekulární medicíny a terapie, Vancouver) uvedl, že při hledání



I. Valeková, P. Vochozková,  
Z. Ellederová  
Ústav živočišné fyziologie a genetiky  
AV ČR, v. v. i., Liběchov

nových biomarkerů v premanifestační a rané fázi HN se ukázaly vhodné observační perspektivní studie TRACK-HD, které detekují změny např. v rychlosti klepání prstů. Zobrazovací biomarkery (imaging biomarkers) rovněž ukázaly hodnotné výsledky, obzvláště využití pozitronové emisní tomografie, strukturální a funkční magnetické rezonance a difúzního tenzního zobrazování. Pro slibné terapie utlumující protein Htt byla biotechnologickou společností IRBM Promidis vytvořena senzitivní analýza detekující Htt v mozkomíšním moku, kde je jeho hladina extrémně nízká. Není zatím zřejmé, zda použitím této metodiky zaznamenáme změnu koncentrace Htt v důsledku léčby, neboť může být velmi malá a nezachytitelná. Douglas Macdonald (CHDI nadace, Los Angeles) představil kvantitativní analýzu Singulex založenou na počítání jednotlivých molekul analytů, prostřednictvím kterých je možné detekovat Htt v mozkomíšním moku s femtomolární senzitivitou. Beth Borovská (CHDI nadace, Princeton) poukázala na to, že biomarkery progresu onemocnění mají různé rozsahy citlivosti a inflexní body (tj. body, kdy může docházet k lokálnímu minimu nebo maximu). Není tedy a priori známé, zda a jak budou reagovat na zásah a zda budou užitečné v klinických studiích. Výběr správných biomarkerů je proto rozhodující.

### Může být terapie směřována i na periferní tkáně?

HN nezpůsobuje pouze poškození mozku, abnormality byly nalezeny i v periferních tkáních, včetně kosterních svalů, kardiovaskulárního systému, krve, pohlavních orgánů a dalších tkání. mHtt je exprimovaný v každé buňce těla a patologie v periférii je znatelná už v raných stádiích HN. Mohou být tudíž terapie modifikující onemocnění zaměřené

i na periferní tkáně? Gill Batesová (King's College, Londýn) diskutovala o srdeční dysfunkci u pacientů i u myšího modelu. Jelikož však nedetekovali agregáty mHtt v srdečním svalu, předpokládají, že kardiovaskulární abnormality jsou jen sekundární. Avšak v kosterním svalstvu agregáty detekovány byly. Pomocí inhibitorů signalizace myostatínu došlo k snížení agregace mHtt v jádrech svalových vláken, a tak i k snížení atrofie svalů u myší. Zda to bude také pravda u lidí, se teprve ukáže. Marie Björkqvistová (Univerzita Lund) představila výsledky mikročipové ana-

lyzy podkožní tukové tkáně pacientů v premanifestačním stadiu nemoci, kde zjistila změnu exprese u více než 400 genů ve srovnání s kontrolní skupinou. Zda tyto změny mají funkční důsledky, není zatím jasné.

Náš tým z Ústavu živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR v Liběchově prezentoval tři postery, z nichž jeden byl vybrán k prezentaci na pódiu. Naše pracoviště vytvořilo a studuje jeden z mála velkých zvířecích modelů pro HN. Jedná se o transgenní miniprase, které nese ve svém genomu promotor a část genu pro lidský mutovaný Htt.

Mozky i jiné tkáně stárnoucích miniprasat testujeme na přítomnost agregátů, zvýšenou zánětlivou odpověď a změny v expresi různých biomarkerů u transgenních jedinců v porovnání s jejich zdravými sourozenci.

HN je monogenní nemoc, proto se předpokládalo, že nalezení léku bude snadné. Nicméně na cestě k jeho objevení se vyskytuje mnoho nečekaných překážek. Ukázalo se, že na nástup nemoci a její průběh mají kromě mutace v genu pro HTT velký vliv i jiné genetické a environmentální faktory. Přesto jak shrnul i Bernhard Landwermyer: „Léky budou!“.

## Erratum

V *Cesk Slov Neurol N* 2014; 77/110(6): 721–733 byly v článku Némethová M et al „Molekulární diagnostika NF1 na Slovensku s využitím analýzy cDNA a MLPA“ chybně uvedeny následující mutace:

Tab. 2a) P101\*\* správný zápis mutace na proteinové úrovni: p.Thr915Aspfs\*4.

Tab. 2b) P103 správný zápis mutace na proteinové úrovni: p.Leu161Phefs\*4.

Tab. 2b) P140 správný zápis mutace na proteinové úrovni: p.Pro1087Argfs\*16.

Tab. 2b) P126\* správný zápis mutace na proteinové úrovni: p.Ala2174Ilefs\*6.

Tab. 2b) P21\* správný zápis mutace na proteinové úrovni: p.Asn2362Thrfs\*13.