

Genetska dijagnostika i pametni lijekovi u neuromuskularnim bolestima u djece

Nina Barišić

Klinika za pedijatriju

Zavod za neurologiju

KBC Zagreb

Referentni centar za neuromuskularne bolesti u djece RH

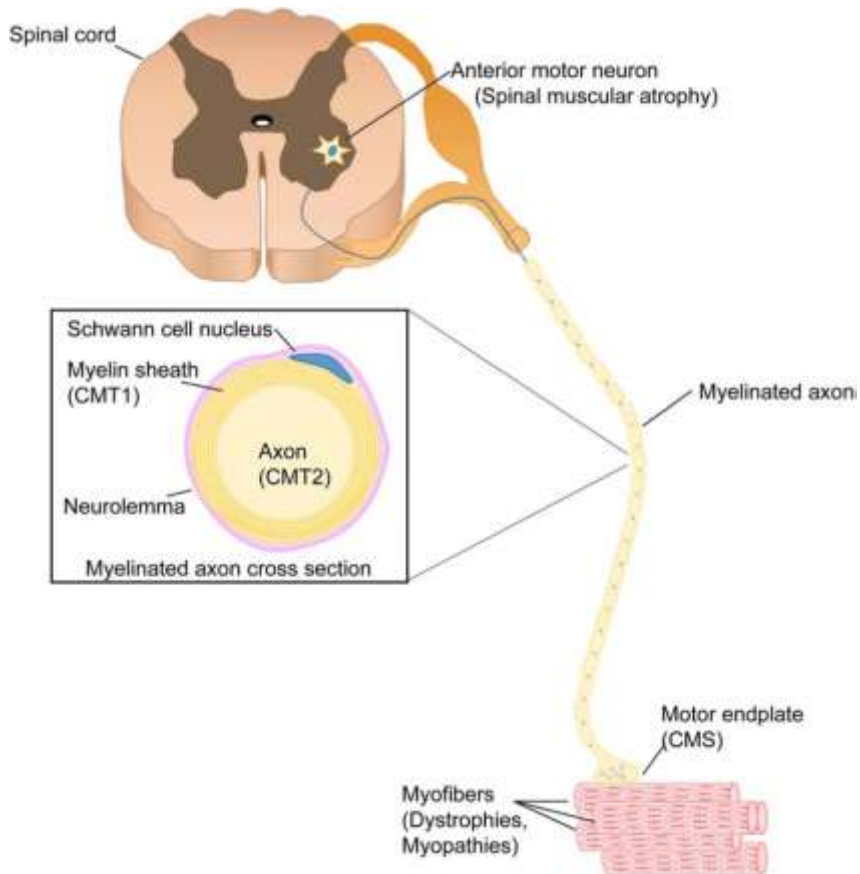
Znanstveni sastanak , Razred za prirodne znanosti

Odbor za primijenjenu genomiku

Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti, Zagreb 23.10.2018

Neuromuskularne bolesti

Motorna jedinica



- varijabilna ekspresija,
- varijabilan tijek
- preklapanje NMB -genetski i fenotip: kong miopatije s KMD, LGMD, KMS

mišićna slabost, hipotonija
zaostajanje u razvoju
zamaranje

Neuromuskularne bolesti- genetske/nasljedne

- neuromuskularne bolesti- značajan uzrok invaliditeta
- prevalencija 0,3/1.000
- osnovni preduvjet uspjeha terapije- **rana dijagnoza**
- često – kašnjenje (kasno) postavljanje dijagnoze (4mj za SMA tip I- 14 g za Pompeovu bolest, za DMD 2 g)-
- 2/3 djece sa zaostajanjem u neurorazvoju- neprepoznato



terapijski prozor -prije razvoja degenerativnih procesa, moguća efikasna specifična terapija i genetsko savjetovanje

Korelacija genotipa i fenotipa

anamneza i status

Genetske neuromuskularne bolesti

dijagnoza u 60% , bez dg do 40 %

Genetska dijagnostika –principi

DNK analiza

- PCR (multipleks)-ciljana analiza
- Delecije+duplikacije
MLPA/CGH

Male mutacije

- NGS, sekvenciranje eksona
- WES, WGS

Biopsija-iznimno

- analiza proteina
(imunofluoresc, Western blot)
- RNK i DNK analiza

Terapija genetskih neuromuskularnih bolesti

rana dijagnoza

novorođenački probir

prenatalna dijagnostika

**Nespecifična-simptomatska
-standardi zbrinjavanja**



**Specifična- etiološka terapija
-personalizirana**

• unatoč napretku - nedostatak etiološke (ciljane, učinkovite) terapije- **koja dovodi do izlječenja**= značajan

• modulacije tijekom ili zaustavljanje progresije (izuzev SMA i DMD)

Etiološka terapija genetskih neuromuskularnih bolesti

Etiološka/personalizirana

Nadomjesna:

Genska terapija (gen+vektori-
AAV virus)

Modificirajuća:

Genetska terapija

-molekularna terapija

protusmjerni oligonukleotidi
(ASO)

-editiranje gena/genoma

-terapija stanicama

Neuroprotekcija i terapija
komplikacija bolesti
(organskih sustava)

Farmakološka

učinak na oksidativni stres,
fibrozu, upalne promjene

apoptozu, autofagiju,
neuromuskularnu spojnicu ,

povećanje mišićne mase

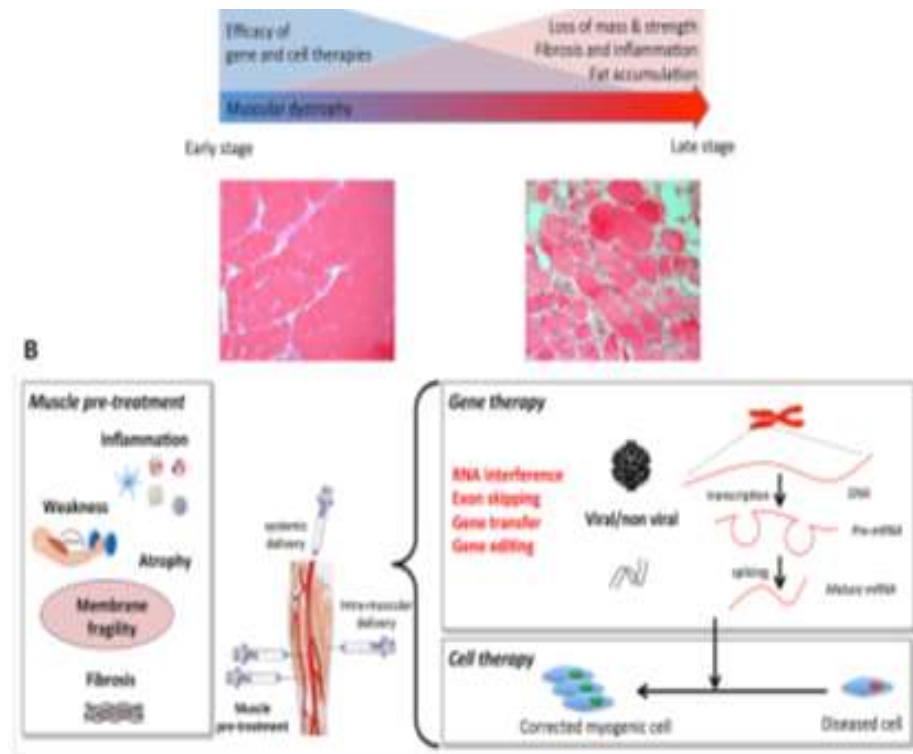
Kardiološka, pulmološka itd

Kombinacija terapija –

prekondicioniranje, kokteli

Za racionalan i efikasan odabir terapije – neophodno je poznavanje

- rana dijagnoza
- patomehanizam bolesti
- uloga genskog produkta
- prirodni tijek i ishod bolesti



Combined Therapies for Duchenne Muscular Dystrophy to Optimize Treatment Efficacy Cordova G et al¹*Front of Genetics April 2018

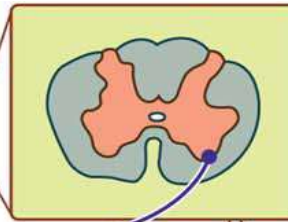
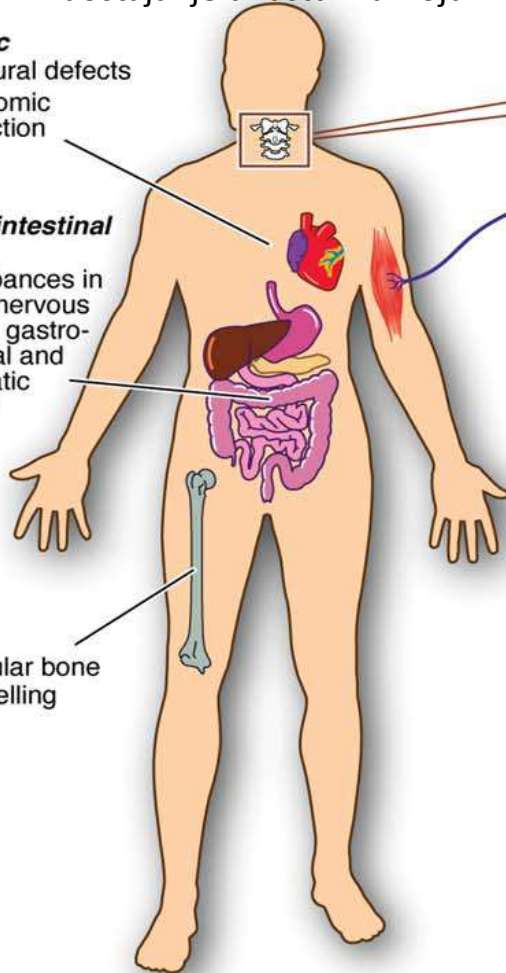
Spinalna mišićna atrofija, proksimalna 5q

Kognitivni poremećaji,
zaostajanje u rasti i razvoju

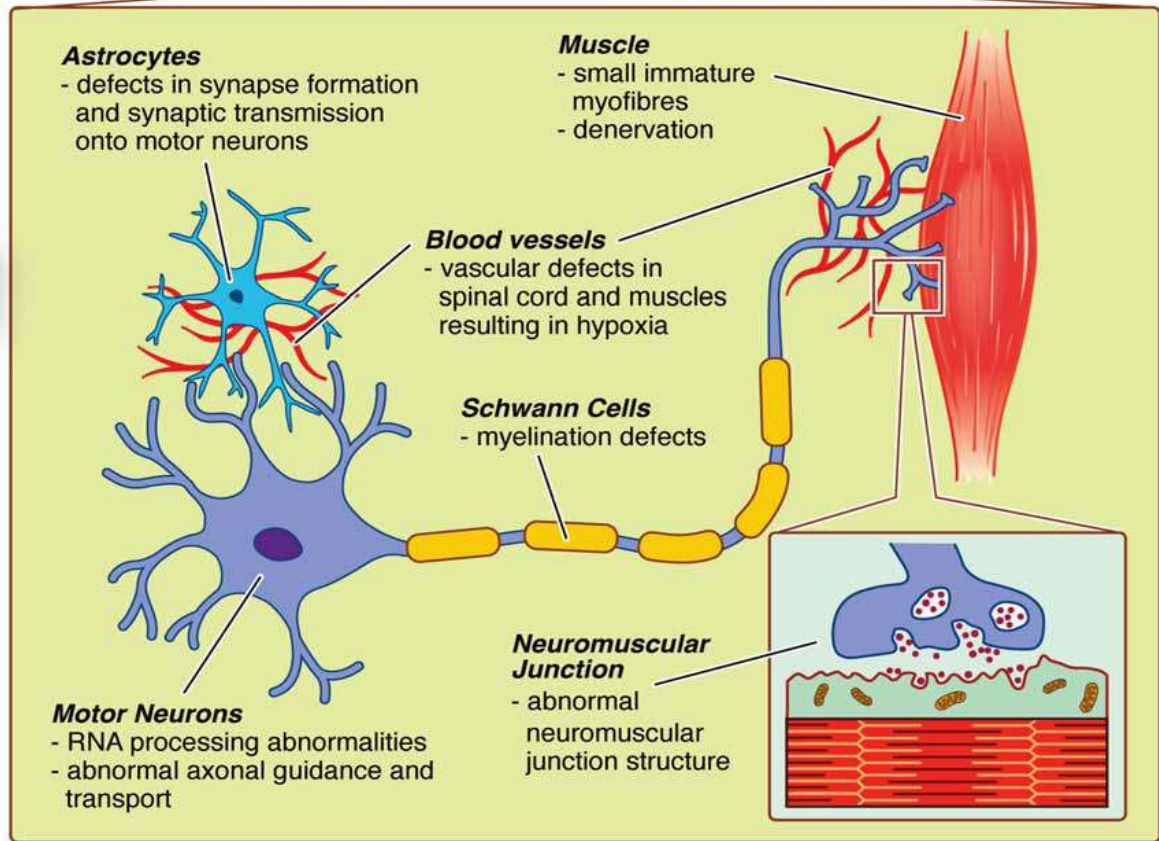
Cardiac
- structural defects
- autonomic dysfunction

Gastrointestinal Tract
- disturbances in enteric nervous system, gastrointestinal and pancreatic function

Bone
- irregular bone remodelling



Motor Network Dysfunction
- sensory-motor circuit dysfunction
- loss of alpha motor neurones



Proksimalna 5qSMA

Slabost proksimalnih mišića

- SMA 0- < rođenja, artrogripoza, SMN2= 1 kopija, E.L.
- SMA I A (do 2 tj);B (do 3 mj) ne kontroliraju držanje glave;C do 6 mj (kontrola +)
- *non sitter, non walker*
- **smrtni ishod** do 2. god-. Δ 9- 13,5 mj (do90%), NIV>16h: Δ 10mj
- +KMP, VSD/ASD
- SMA II 7 do 17 mj,tremor
- *sitter*
- SMA III A(<3g) i B(>3g), (Kugelberg Welander)
- *walker*
- SMA IV >10-30 g ili >30 g adultni oblik (Farrar 2017)
- preklapanje pojedinih tipova SMA



SMAIII



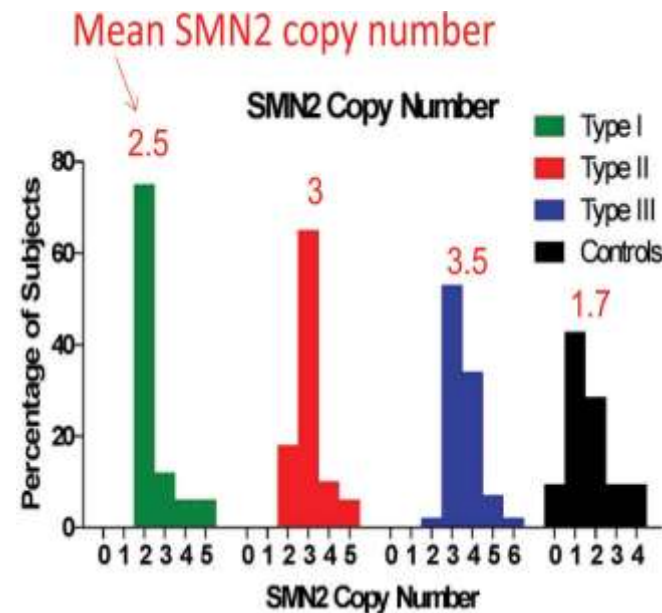
SMA IV

Genetika proksimalne/ iSMA 5q

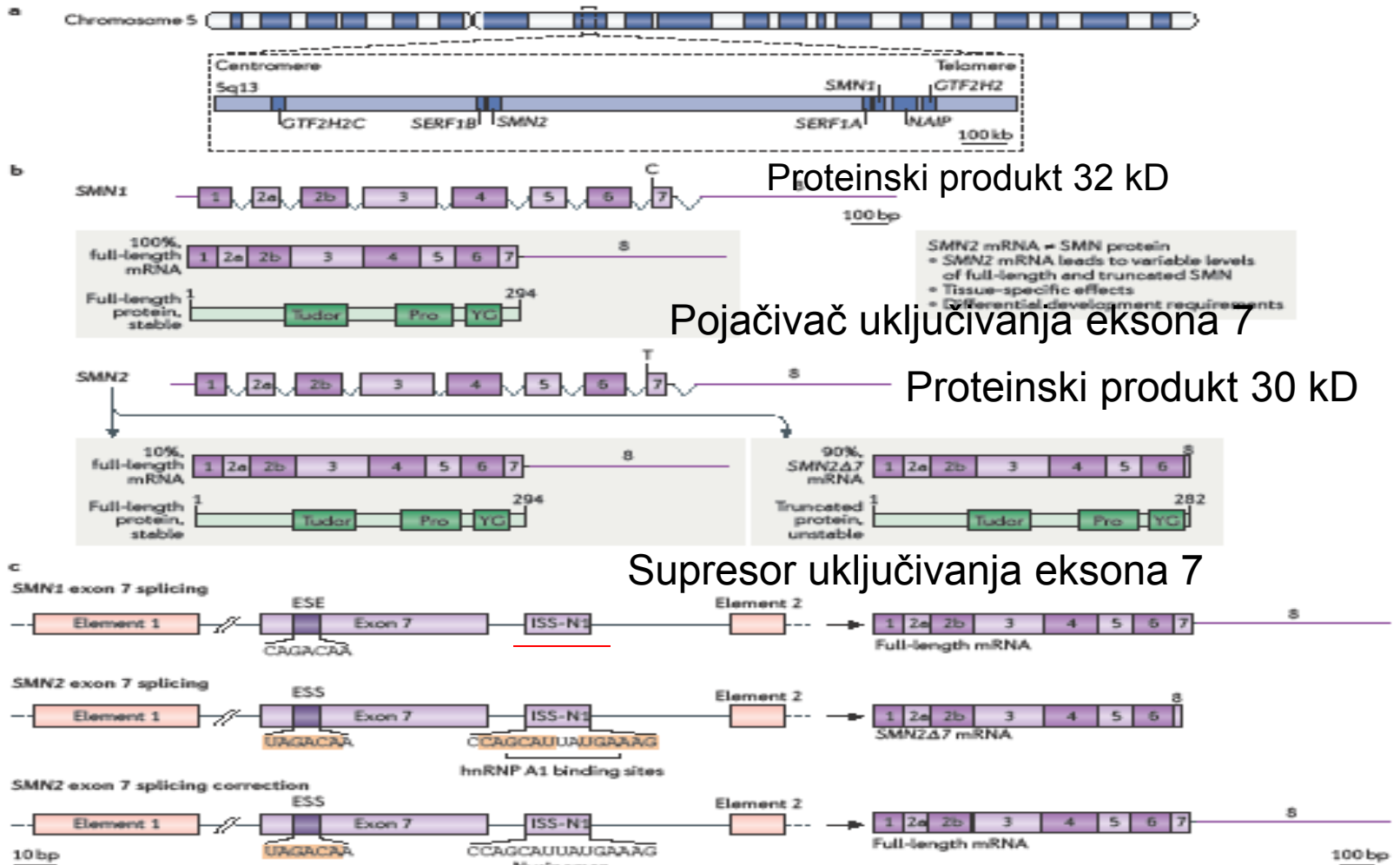
- novorođenački probir (do sada u USA, Belgija, Taiwan)
- SMN1 egzon 7 i 8, kromosom 5q11.2-q13.3 u telomernoj regiji –u 90% **homozigotna disrupcija/delecija SMN1 gena (ekson 7 +8)- (PCR-kvant.)**
- 5% homozigotna del ekson 7 (**ne ekson 8**)
- 5% složeni heterozigot s **intragenskom točkastom mutacijom** na drugom eksonu ili alelu (ne na 7,8, ili 5) (Wirth et al., Parsons et al., Alias et al.).
- vrlo rijetko -obje mutacije točkaste (**NGS, sekvenciranje ne del. eksona**)

- *de novo* mutacije -2% (roditelji nisu prenosiooci)
- broj SMN1 kopija : 2 i > = normalan nalaz
MLPA 1 =prenosiooc ili bolesnik
- 2 kopije na 1 krom. : 2+0= prenosiooc u 4 %
- učestalost prenosiooca SMA 5q 1:45-70

6% roditelja- normalan nalaz 2+0 +de novo



SMN gen= 9 eksona i 8 introna, 20 kb, SMN2 samo u ljudi
ekson 7 – značajan za kodiranje (ekson 8 ne kodira, posuđuje 4 AK)



Pojačivač uključivanja eksona 7

Supresor uključivanja eksona 7

Intronski utišavač prekrajanja ISS-N1-cilj za nusinersen

Alternativno prekrajanje uloga nije potpuno razjašnjena

- atraktivan terapijski cilj
- gotovo 50% identificiranih patogenih mutacija -rezultat alternativnog prekrajanja
- evolucija alternativnog prekrajanja u eukarionata →
- **povećava kodirajući potencijal genoma** =omogućuje ekspresiju višestrukih izoformi m-RNA jednog jedinog gena
- prekrajanje se može kontrolirati- uključivanje eksona, preskakanje, retenciju introna

Uloga SMN proteina (294 ak)

SMN protein neophodan za prekrajanje

procesiranje RNA (m RNA)

biogeneza malih nuklearnih (Sn) RNP → mRNA → Cajalova
tjelešca → splicosom → prekrajanje

mali nukleolarni RNP (sno)RNP → postranslacijska modifikacija
nekodirajućih RNA

Genetski modifikatori bolesti

Pozitivni utjecaj na fenotip

- broj SMN2 kopija obrnuto proporcionalan s težinom bolesti
- odnos nije uvijek linearan niti prognostički značajan
- varijanta SMN2 gena c.859G > C u eksonu 7 uzrokuje blaži fenotip
- plastin (PLS3) nosioci homozigotne delecije –normalan fenotip

Negativan utjecaj na fenotip

NAIP /BIRC1 egzon 5- u 75 % odsutan u SMAI

SERF1 (small EDRK rich factor 1A)- u 35% odsutan u SMAI

Nedostatak SMN proteina posljedica : poremećaj homeostaze neurona aktin –značajan posrednik

Poremećaji značajni za patogenezu

SMA

disfunkcija neuromuskularne
spojnice (NMS)

- dinamika aktina, smanjena razina aktina
- ubikvitinska homeostaza
- funkcija mitohondrija
- endocitoza

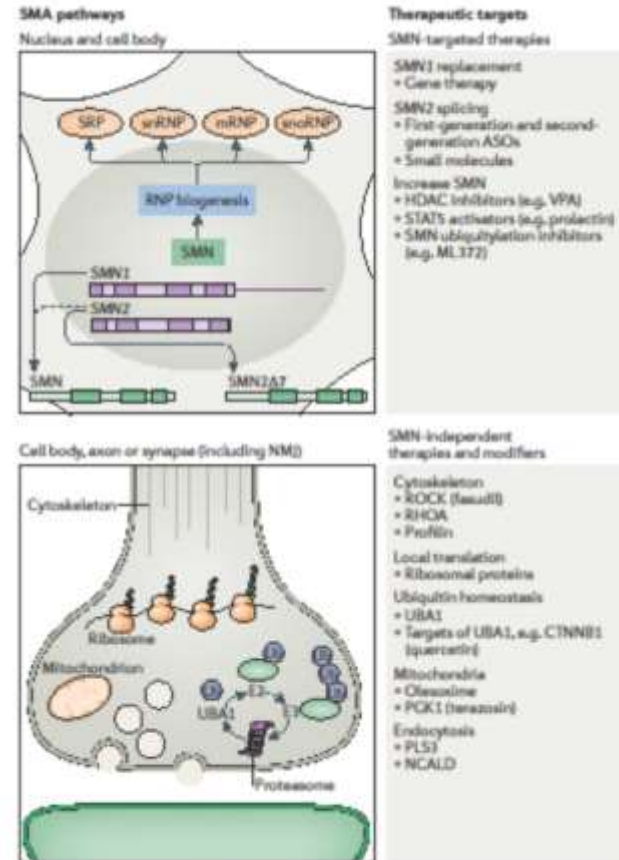


Figure 2 | Cellular pathways and therapeutic targets in SMA. First-generation spinal muscular atrophy (SMA) therapies, including nusinersen, are predominantly aimed at

SMN protein ↓:

→ poremećaji: funkcije genetskih modifikatora, mehanizama homeostaze i enzimske aktivnosti
potencijalni terapijski ciljevi

- smanjenje razine ubikvitina – smanjena aktivnost enzima – modifikatora ubikvitinu sličnog aktivatora (UBA 1)- gomilanje katenina- aktivacija flavonoidom kvercetinom
- oštećenje funkcije mitohondrija – smanjena aktivnost enzima PGK-fosfoglicerat kinaze, aktivacija terazosinom
- endocitoza

Genetski modifikatori SMA-utjecaj na homeostazu kalcija

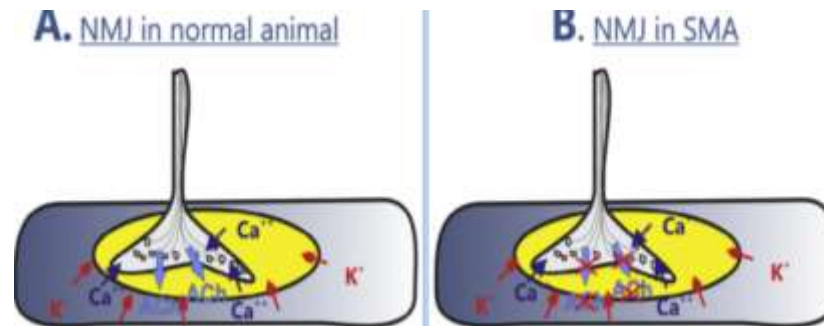
neurokalcin (*NALCD*) i *CHP1* (calcineurin hand protein) ↑ aktivnost
aktivnost kalcineurina ↓

NALCD -funkcionalno vezan za aktin

uloga i dinamika aktina i endocitoze- bitna za patogenezu SMA

- Potencijalni terapijski cilj

poremećaj funkcije NMS



Normalna razina SMN proteina – utok kalcija uzrokuje otpuštanje ACh

Jantzen N, Brain 2018
SMA -izostaje otpuštanje acetilkolina

Poremećaji mehanizama homeostaze

profilin ↓ u SMA – aktivira gene iz RAS obitelji

- povećana aktivnost GTP-aze Rho-a i efektor te molekule RhoA ROCK (RhoKinaza)→
- akumulacija RhoA ROCK kompleksa koji štete rastu aksona
- fasudil Y-27632- inhibitor RhoA ROCK kinaze- može produljiti život neurona
- ne povećava razinu SMN proteina niti preživljavanja motoneurona

Mikro RNA u SMA

μ RNA- značajan za razvoj motoneurona i rast aksona, strukturu citoskeleta i formaciju sinapse

- potencijalni biomarker SMA (responder/nonresponder)
- μ RNA183– bitna za translaciju m-TOR (mechanistic/mamalian TOR) i djeluje kao regulator
- mTOR kompleksi reguliraju regeneraciju aksona
- SMN \downarrow i translacija mTOR-a \downarrow
- μ RNA183 \uparrow u neuronima sa \downarrow razinom SMN proteina
- supresija μ RNA183 i ravnoteža μ RNA183 i mTOR –preživljavanje motoneurona
potencijalni novi terapijski cilj
- poremećaj μ RNA183 - izražen u SMA I u odnosu na SMA II i III

Protusmjerni oligonukleotidi (ASO) i male molekule

1. generacija- ASO- O metil fosforotioat riboza i metoksi etil Fosfotioat MOE), negativnog naboja, $t_{1/2}$ –dugo, djeluju i.t.(nusinersen), ne prelaze stijenku endotela krvnih žila, gusti celularni matriks i membranu jezgre da bi došli do DNA i RNA, aktiviraju trombocite, mogu uzrokovati trombocitopeniju i trombozu
- 2.generacija – male molekule morfolino oligomer (ASO morfolino- pMO), fosfordiamidat , neutralnog naboja, otporniji na metaboličku degradaciju endonukleazama, efikasniji , i manje štetni od ASO (selektivniji i više specifični od ASO), $t_{1/2}$ kraći, češća primjena

ne vezuju se za proteine i nemaju sklonost vezanju izvan zadanog cilja tj zadane sekvence i u ovisnosti o svojoj duljini
3. generacija - za preskakanje (primjena nanotehnologije)-eteplirsen (DMD)

Nusinersen- modificira prirodni tijek bolesti – ne dovodi do izlječenja

- nusinersen-vezivanje na RNA –(komplementarnih baza)
- ciljano djeluje – vezujući se (sparujući) sukladno Watson Crick sekvencama, moguća kontrola učinka
- modificira prekrajanje (izrezivanje i vezivanje)
- povećava ekspresiju proteina

- kemijske prilagodbe ISS N1 ASO –(nusinersena)
fosforotioat-sprječava degradaciju ASO endonukleazama,
smanjuje afinitet hibridizaciji, povećava citotoksičnost
(aktivacija kaskade komplementa, poremećaj koagulacije,
alveolarna st tip II i bronhalna toksičnost, nefrotoksičnost)

2 MOE (metoksi-etil)-smanjuje citotoksičnost i povećava hibridizaciju

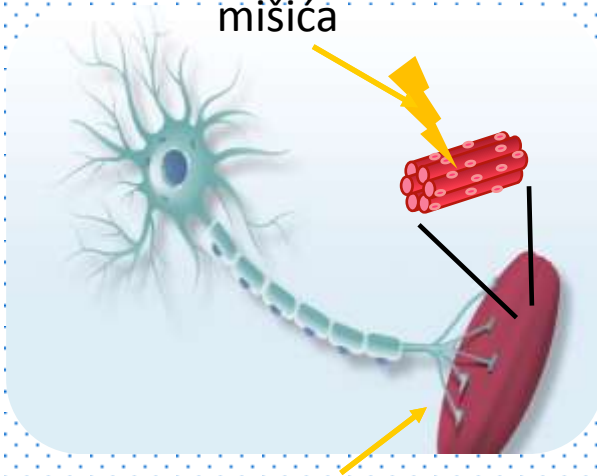
Outcome	Sham procedure control	Nusinersen
Death or permanent ventilation, n (%)	28 (68%)	31 (39%)
Alive and no permanent ventilation, n (%)	13 (32%)	49 (61%)

Terapijska strategija u SMA 5q (višestruki ciljevi)

Nedostatak terapije koja dovodi do izlječenja SMA

„non SMN” terapija
terapija perifernih tkiva

učinak na kontraktilnost
mišića



učinak na neuromuskularnu spojnicu-
piridostigmin, mišićnu masu-**SRK-105**, fibrozu,
apoptozu, autofagiju
metabolizam Ca **Reldesemtiv (CK-21270)**:
neuroprotekcija

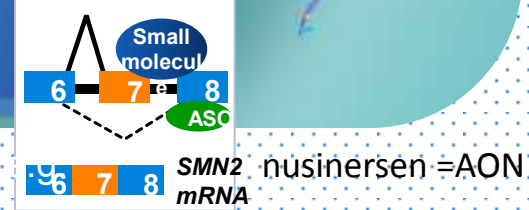
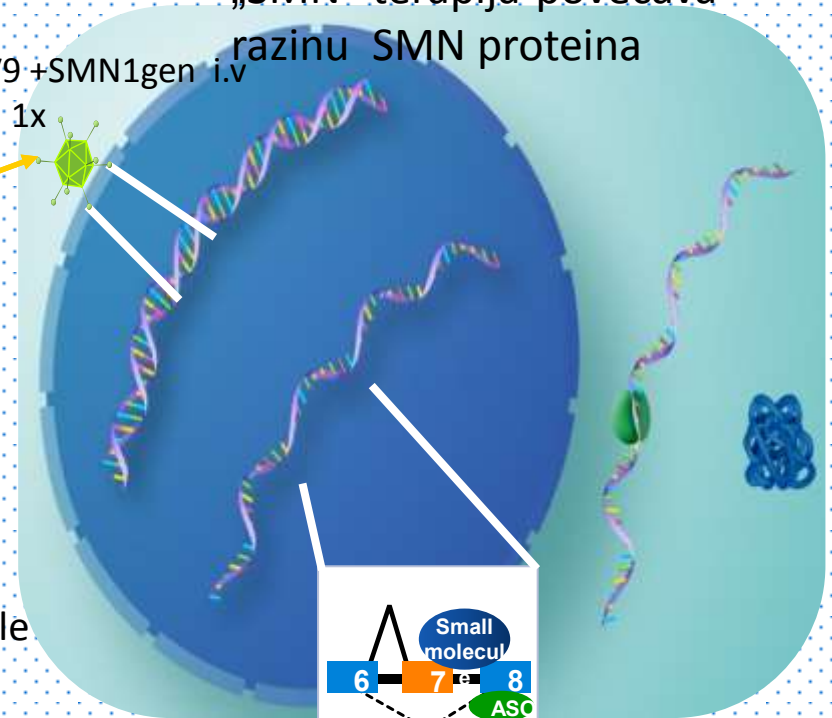
doživotno provođenje terapije

Farrar M. et al. *Ann Neurol.* 2017; 81:355–358.

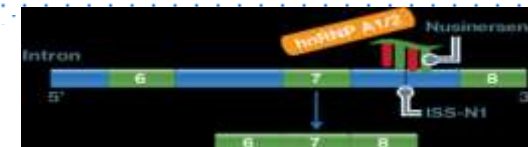
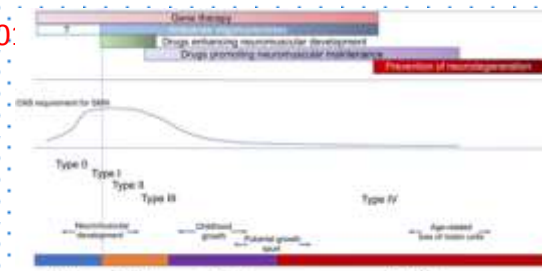
„SMN” terapija-povećava
razinu SMN proteina

Nereplicirajući AAV9 +SMN1gen i.v
Vrlo uspješan FII/III 1x

genska
(nadmjesna)
AVXS-101
i
genetska
terapija
AON +
Male molekule
SMN2



male molekule=risdiplam, branaplam
modificiraju prirodni tijek SMA

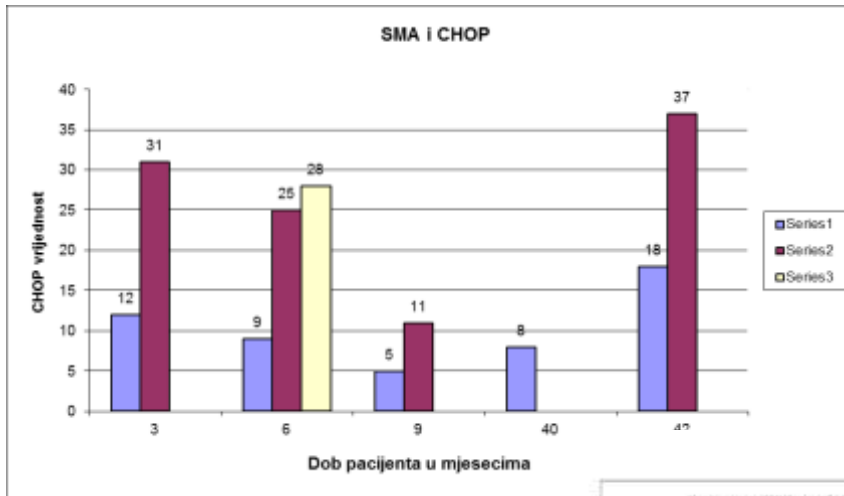


Spinraza- rezultati terapije za SMA tip I -III

- **SMA tip I** - 5 djece sa SMA I - 4 iz RH (1 iz BIH) primilo terapiju Spinrazom
- 1 dijete je dobilo 6 doza , ostali 5 doza
- 1.CHOP –Children hospital of Philadelphia na prvom testiranju raspon 5 -13 bodova (od 64), 2. CHOP (nakon 6 mj terapije) raspon 11 (prije 5) - 37 , 3.CHOP (nakon 4 mj) porast od 25-28 (u 1 djeteta)
- bez nuspojava aktuelno, na kroničnoj invazivnoj ventilaciji =0
- NIV tijekom spavanja-svi ,
- preboljeli (nakon prve 2-3 doze) : upalu pluća (2) , apneje višekratno (1) i influenzu (2)
- 3 od 5 djece prehrana sondom u 2 /5 ukinuta prehrana NG sondom
- **SMA tip II i III** - 11 djece (dob 6-17 g) (2- 3 doze),
- 1.HFSME- prije primjene : 0-55/66 (2 djece=0)
- klinički i subjektivno-poboljšanje , manji zamor

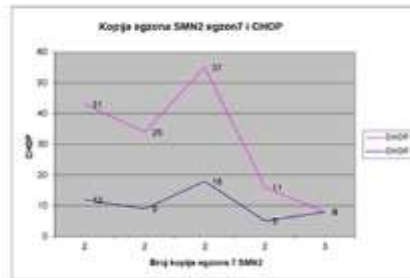
Djeca sa SMA tip I na terapiji Spinrazom

Rezultati procjene motornih funkcija

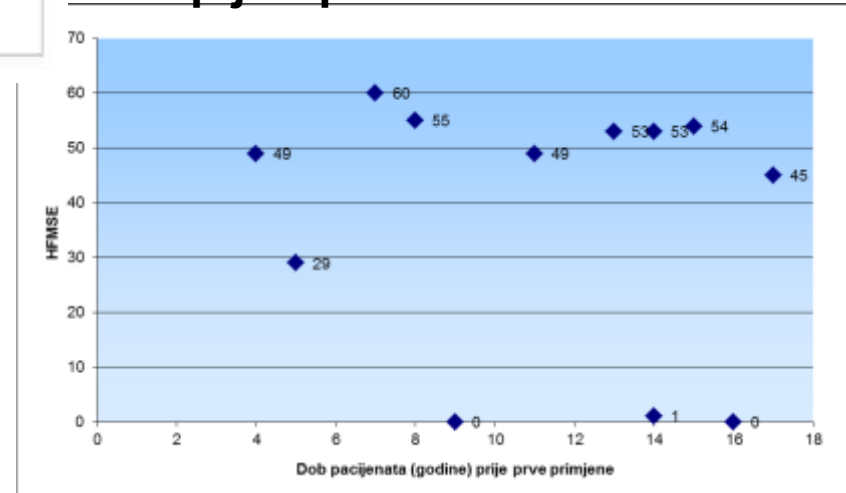
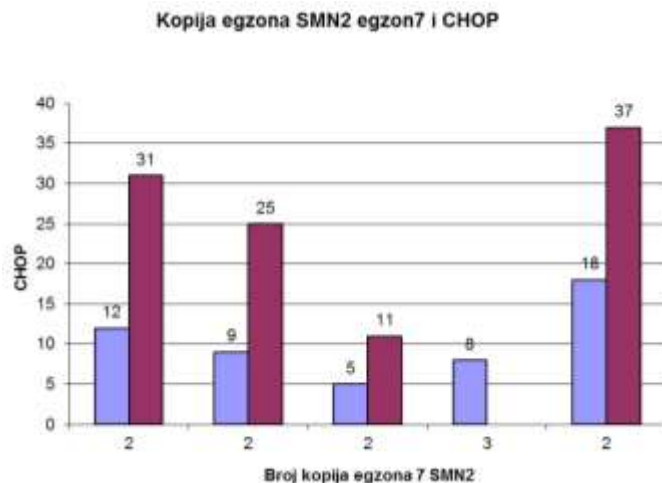


Registar djece do 18 g sa SMA u RH

	ukupni broj SMA bolesnika	Do 18 godina	
		bez TMV	TMV/TS
SMA I	17	5	12
SMA II	16	13	3
SMA III	16	16	0



SMA tip II i III prije početka terapije Spinrazom



Podjela mišićnih distrofija

- Progresivne mišićne distrofije (Duchenne /Becker)
- Kongenitalne mišićne distrofije
- Pojasne mišićne distrofije –15 tipova
- Emery Dreifussova mišićna distrofija
- Facioskapulohumeralna mišićna distrofija (sluh i vid)

- Distalna mišićna distrofija (Myoshi, Welander)
- Okulofaringealna mišićna distrofija

Progresivna mišićna distrofija- DMD/BMD (Xp21.2-21.1)

mišićne bolesti=multisistemne bolesti

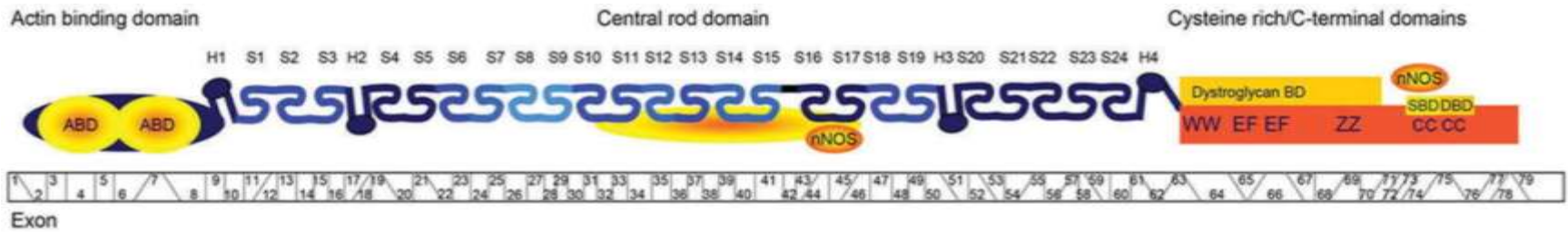
učestalost DMD 1 : 3.500-5.000 u novorođenih dječaka,

DMD- gubitak okvira za očitavanje-
nedostatak distrofina (nefunkcionalan)

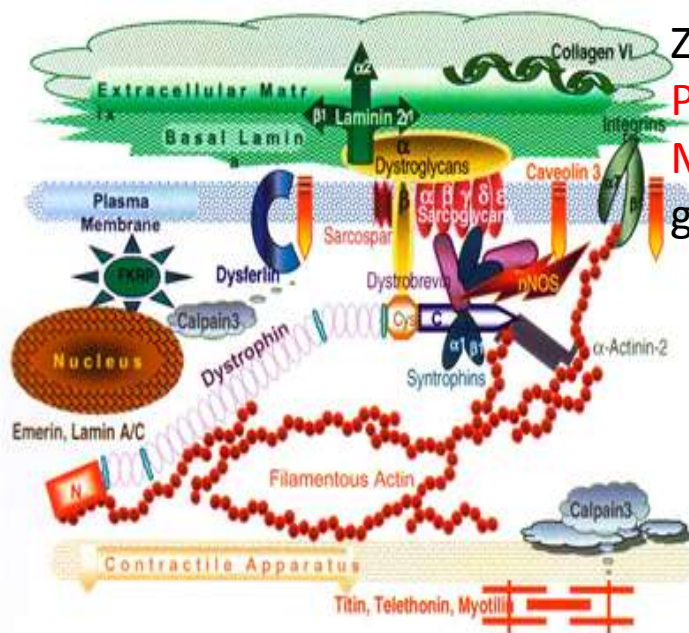
BMD- očuvan okvir za očitavanje,
djelomično funkcionalan distrofin

pravilo okvira za očitavanje- iznimka del 3-6





Distrofin povezuje citoskeletni aktin sa ekstracelularnim matriksom

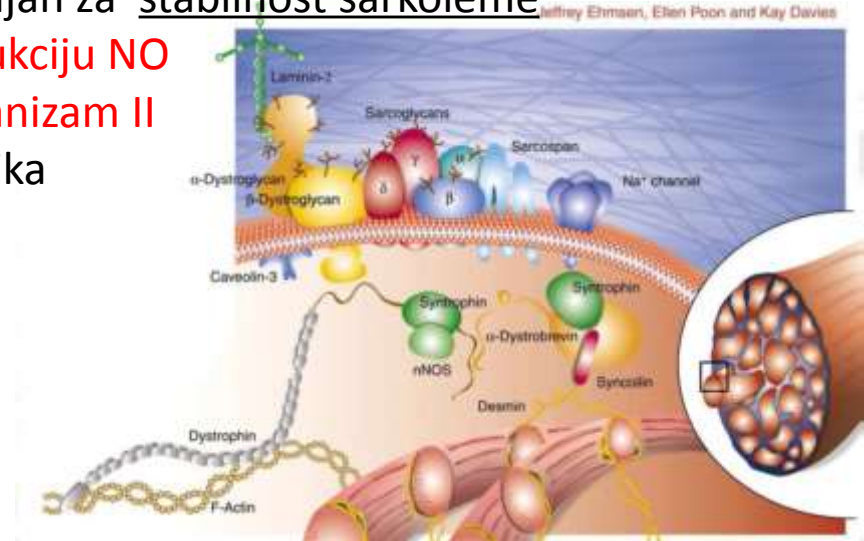


Značajan za stabilnost sarkoleme

Produkciju NO

Mehanizam II

glasnika



Distrofin - 4 domene- 1. (A)amino koji se veže za aktin (i eksone 2-9 i 31-45), 2. centralnu domenu sličnu spektrinu i 3. (C) cisteinom bogatu domenu i 4. karboksi domenu-homolog urotrofinu (vezanu za distroglikan (eksoni 65-79) 427 kD, gen 2,2 MB

Nedostatak distrofina

aktivacija kalpaina →

- povećanje razine intracelularnog kalcija
- uzrok degradacije proteina i staničnu smrt
- aktivacija dušikova oksidula (NO) → hipernitrozilacija RYR1 receptora

→ degeneracija mišićnog vlakna

- upala
- povećanje masti
- fibroza (na skeletnim i srčanom mišiću)

Klinička sumnja na DMD-dječaci

zaostajanje u razvoju motorike,
nespretnost, česti padovi,
usporen razvoj govora

CK (10–100 x viši od norm
povišene vrijednosti AST/ALT

pozitivna obiteljska anamneza

hipotonija

Gowersov znak+ (>15 mj)

(pseudo)hipertrofija potkoljenica

teško uspinjanje uz stube

bolovi i grčevi u mišićima

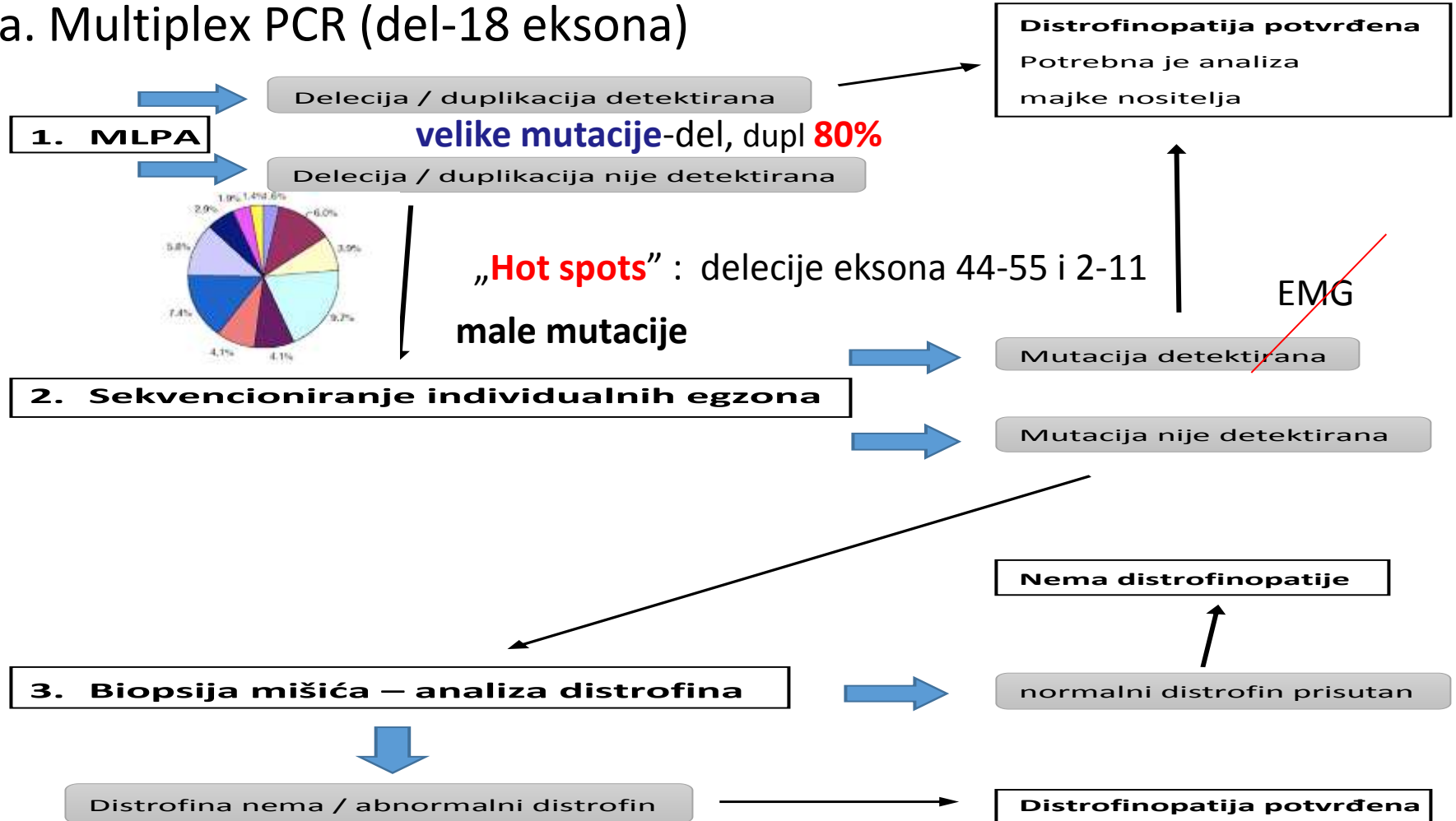
mentalno zaostajanje

kognitivni problemi :razvojna

disleksija , problemi pamćenja

Postupna analiza mutacija kod sumnje na DMD

a. Multiplex PCR (del-18 eksona)



DMD -mutacije povezane s oštećenjem okvira za očitavanje (reading frame) – distrofin=nefunkcionalan (prematurna trunkacija)

BMD imaju čuvan okvir za očitavanje- distrofin= djelomično funkcionalan

Sve mutacije u DMD nemaju iste fenotipske posljedice

- mutacije -eksona 45 ili eksona 3-7
- veća učestalost endogenog/spontanog preskakanja (restitucija okvira za očitavanje) i reverznih dys+ vlakana

Dwianingsih, et al., 2014; Prior, et al.

- bolji klinički i funkcionalni ishod-dulja samostalna pokretljivost

razvoj kardiomiopatije- do 18 g u 80% bolesnika

- del eksona 12, 14 to 17, 31 to 42, 45, 48 ,49-povećavaju rizik za KMP
- del 51 i del za isoformu distrofina 116-smanjuju rizik razvoja KMP

Cardiac Dysfunction in Duchenne Muscular Dystrophy Is Less Frequent in Patients With Mutations in the Dystrophin

Dp116 Coding Region Than in Other Regions Tetsushi Yamamoto, PhD Hiroyuki Awano, MD, PhD *Circ Genom Precis Med.* 2018;11:e001782. DOI

Suvremeni terapijski pristup liječenju distrofija

Etiološka terapija

restoracija distrofina

- genska terapija

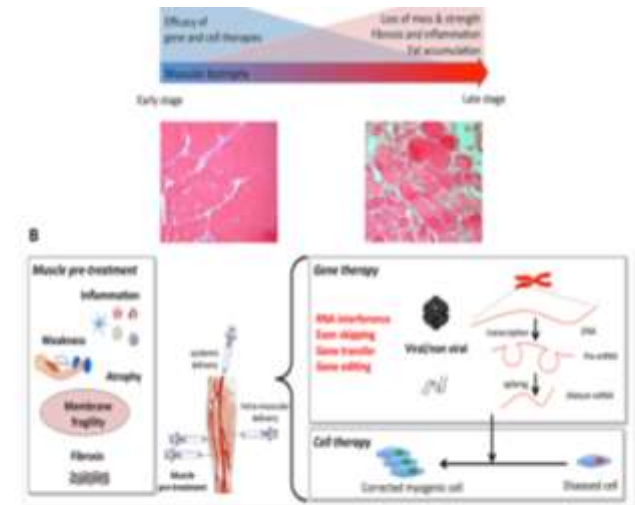
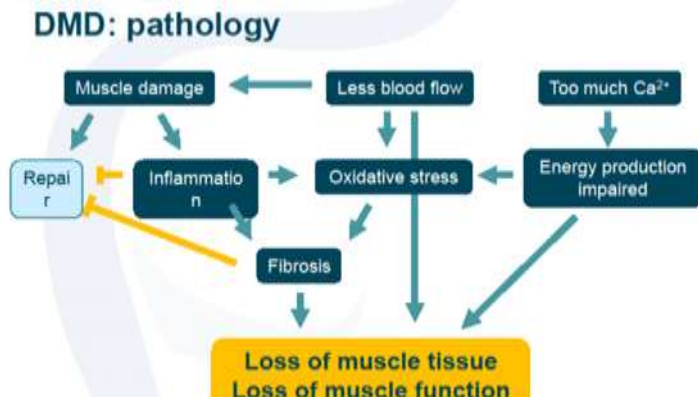
genetska

- preskakanje eksona (exon 51)
- pročitavanje stop kodona-ataluren

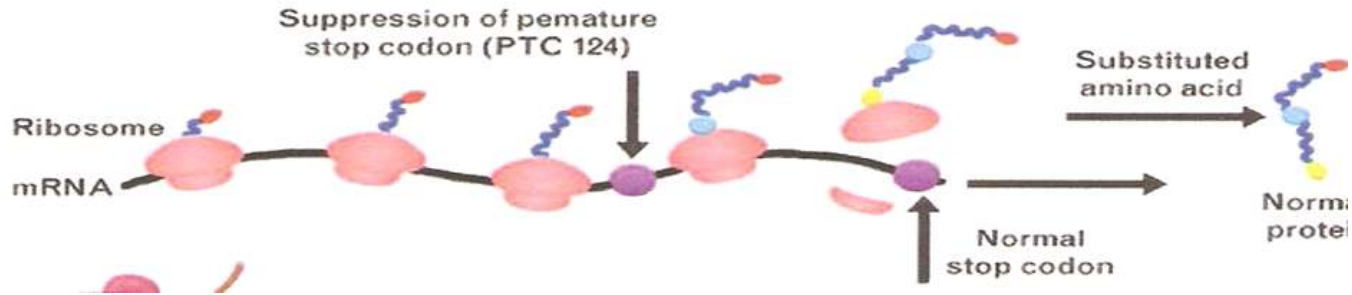
- editiranje genoma
- povećanje ekspresije urotrofina
- terapija stanicama

Farmakološka terapija

- protuupalna
- protufibrozna
- povećanje mišićne mase
- poboljšanje vazodilatacija



Combined Therapies for Duchenne Muscular Dystrophy to Optimize Treatment Efficacy Cordova G et al*Front of Genetics April 2018



besmislena mutacija (*premature stop codon*) 10-15 % bolesnika
 -onemogućava translaciju i produkciju distrofina

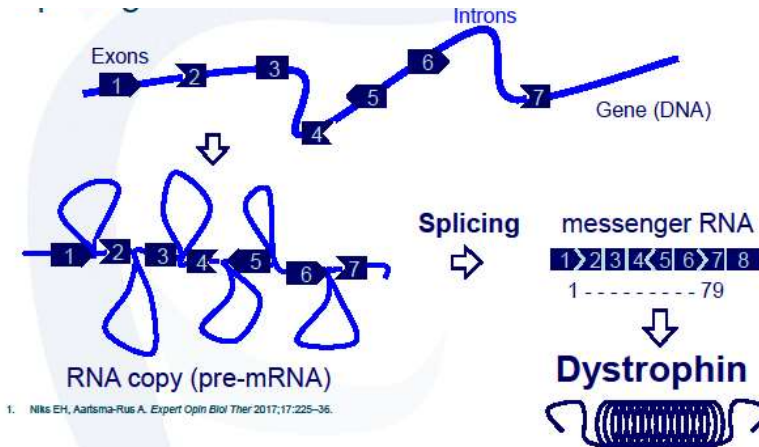
Ataluren -policiklička molekula-sposobnost pročitavanja kroz
stop codon

sličan učinak- aminoglikozidi

Ataluren -u bolesnika > starijih od 2 g, koji su pokretni

Od gena (mutacije gena) do proteina (funkcionalnog (djelomično) ili afunkcionalnog)

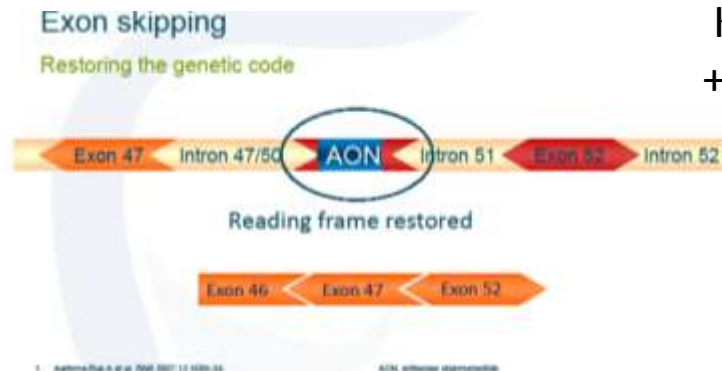
Prekrajanje (splicing) i preskakanje (skipping)



Restitucija okvira za očitavanje

AON- morfolino exondys 51
nakon 3 godine terapije bolesnici mogu hodati oko 151 m dulje od bolesnika koji nisu na toj terapiji,
nakon 4 godine terapije s AON 51 20% bolesnika nepokretno u odnosu na 80% bez th.

Preskakanje eksona



Kombinacija exon skipping AON 51
+dantrolen -značajan boljitak

Urotrofin – funkcionalno sličan distrofinu

- Ezutromid -povećanje urotrofina kl. faza 2/3 - SUMMIT studija

Terapija stanicama

- matične stanice (mišića, ili srca u DMD)
- lokalna primjena mioblasta i.m.

Problemi -broj stanica, način primjene (i.m.-multiplo)

imunološki odgovor (poput alogenih transplantacija)

Editiranje genoma

CRISPR-Cas9- clustered regularly interspaced short palindromic repeats)

Delecije , duplikacije
(„snipping” -izrezivanje)

način primjene- „škare+GPS” –
primjena- virusni vektor ili
transplantacija editiranih stanica
nuspojave, imunogenost
najefikasnije-editiranje zigote



Genska terapija

Problemi genske terapije vektorima-veliki geni

AAV- malen: ~20 nm, 0.00002 mm

- kapacitet: 4700 bp (4,7 kB)
 - gen za distrofin: 2.2 Mb
 - puna duljina genetskog koda: 14 000 bp
- kompromis-reduciran gen -Microdystrophin, mini distrofin

AAV 9 (navodno) nema mogućnost replikacije

AAV je episomalan: ekspresija se smanjuje vremenom

Vulin A et al. Mol Ther 2012;20:2120–33.

AAV, adeno-associated virus u Golden retrieveru sDMD (GRMD) potpuno iščezava nakon 48 mj - *Pfizer, Genethon*

Nespecifična terapija modulacija fenotipa

Inhibicija miostatina –protutijela

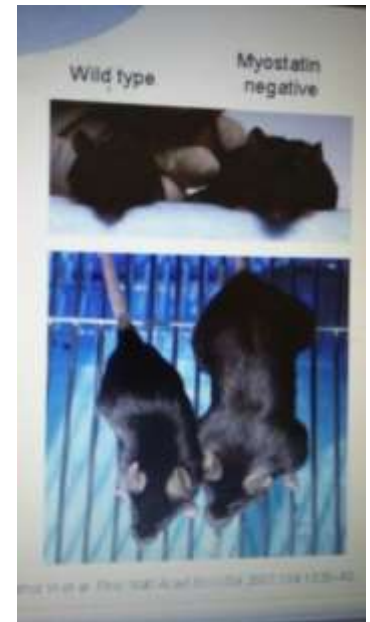
Folistatin –kl.ispitivanja faza 2

Inhibicija miostatina povećava mišićnu masu

u svih bolesnika sa NMB

ne djeluje samo na mišiće sa deplecijom distrofina

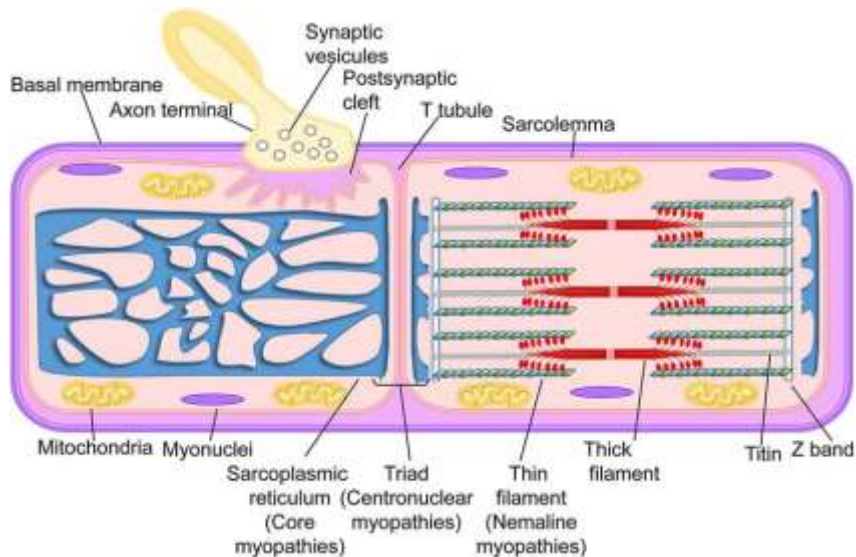
u moguća primjena kombinaciji sa ostalim terapijskim pristupima (koktelima)



Nespecifična terapija

- protuupalni učinak – steroidi (deflazakort, prednison) i Nfkapa b
- simpatoliza – sildenafil, tadalafil (manje protoka manje oksid. stresa)-nije djelotvoran u ljudi
- antioksidanski -idebenon
- inhibitori deacetilaze histona -smanjuju fibrozu, resetiraju genetske markere i stanice tendiraju regeneraciji
givinostat, ACE inhibitori-losartan, inhibitori TGF1, osteopontin

Kongenitalne miopatije



4 tipa

- Jezgra (core) (centralna, mini)
- Nemalinska (štapići=
- Centronuklearna
- Kongenitalna disproporcija vlakana

Geni- RYR –najčešća mutacija, i
MTM1, ACTA1, MYH7, DNM2,

- rani početak do 18 mj , zahvaća ličnu muskulaturu (za razliku od KMD),
- varijabilna klinička slika (genska ekspresija)

Centronuklearna miopatija (Xvezana-miotubularna, MTM1 gen)

• respiratorna insuficijencija, noćne hipoventilacije

• teškoće sisanja, gutanja

• usko lice, dugi prsti, ekvinovarus

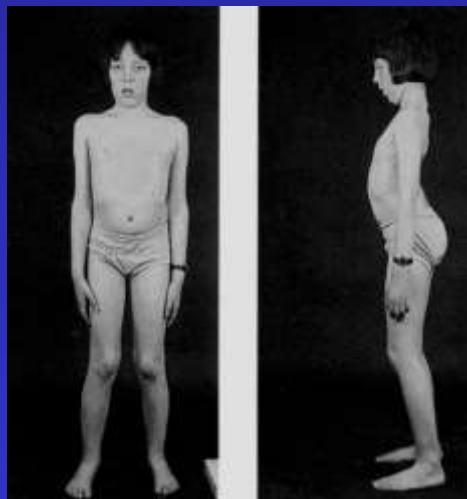
• oftalmoplegija, ptoza



za X-vezanu centronuklearnu miopatiju uzrokovanu mut gena MTM1

Genska terapija –

- nadoknada MTM1 gena –i.v. KI faza I
- modulacija MTM1 gena redukcijom razine DNM2 (sa fosfoinozimid fosfatazom) koja regulira funkciju MTM1 uspješno na eksperim. modelu (Cowling, Sabha 2016)
- nadoknada enzima uspješna (eksper. faza) (Lowlar 2013)



Kongenitalna miotona distrofija

• dinamička mutacija:

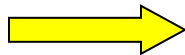
CTG trinukleotid (> 50)

-blaža forma
-teža forma



• SŽS

- Mentalna retardacija, epilepsija
- ventrikulomegalija/progresivni hidrocefalus
- poremećaji giracije-
mikropoligirija, lisencefalija
- hipomijelinizacija
- kod starijih zahvaćanje
cerebeluma i talamičkih jezgara
- mikrocefalija



• respiratorna
insuficijencija

• slabost lične
muskulature

očni simptomi

- retinalna hipoplazija
- optička atrofija
- strabizam

kontraktуре

hipotonija

CK blago povišen

DM1

Genska terapija

- VAL0411 – djeluje na aberantno prekrajanje
- učinak na specifične RNA endonukleaze – cilj= toksična RNA
preklinička faza-Zhang 2014

Genetska terapija

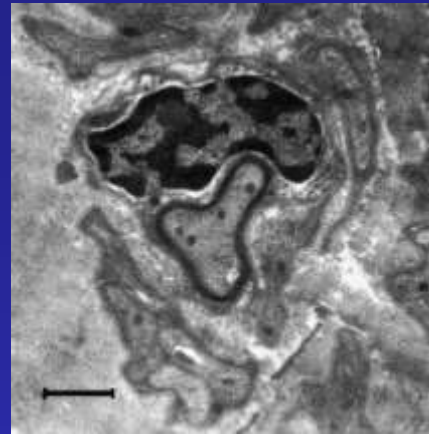
- **ASO** cilj- tripleti CUG u genu DMPK
-smanjuje toksičnu RNA, onemogućava sekvestraciju MBLN
proteina-faza II (Pandey 2015)-Biogen

Farmakološka terapija

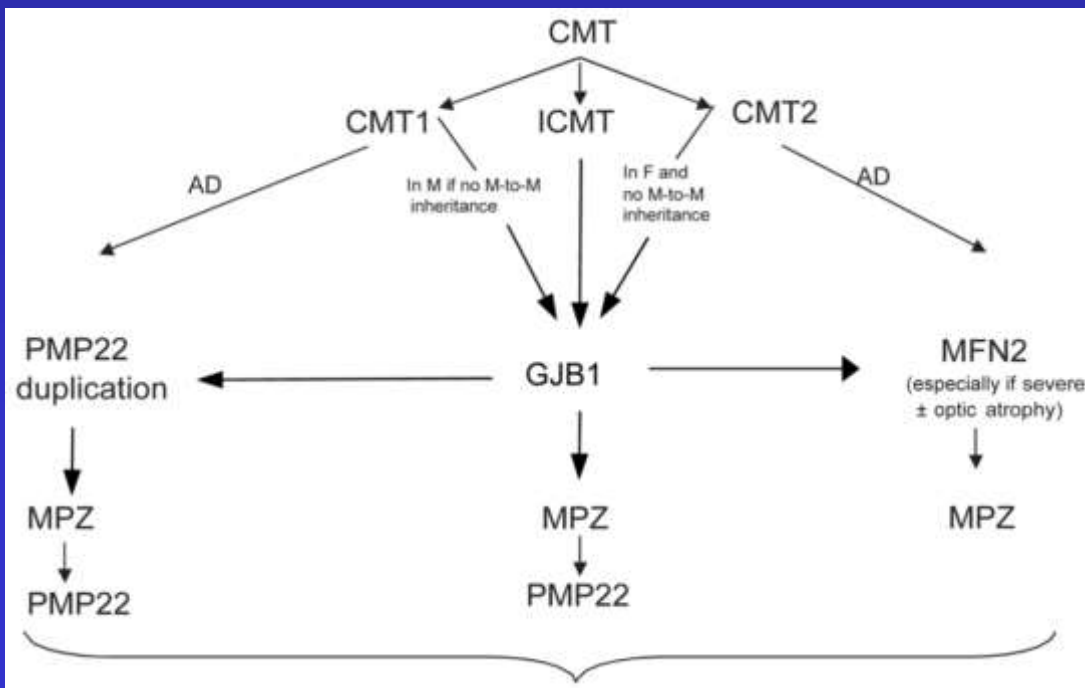
- meksiletin- učinak na miotone fenomene - antagonist natrijevih kanala (p.o.), nuspojava - aritmije
- metilfenidat- za hipersomnolenciju

Nasljedne periferne neuropatije

CMT1A – najčešće (AD)
CMT4 (AR) rijetke



geni - P0, PMP 22, koneksin , ERG



Charcot-Marie-Tooth neuropatije
učinak terapije = smanjenje produkcije PMP22 proteina,
hipertrofčnih promjena živca i fibroze

Neuspjeh terapije : vit C, vit E i esencijalne masne kiseline,
kreatin (Burns, Pareyson 2011)

Vit C –učinak putem transkripcijske represije cAMP

uspješna terapija

biotin u visokoj dozi za CMT1- faza I/II

kurkumin u CMT 1B (MPZ gen) smanjuje oksidativni stres u
endoplazmatskom retikulumu

niacin u CMT4B1 (MTMR gene)-smanjuje utjecaj neuroregulina
na stvaranje lukovičastih tvorbi mijelina (preklinički) Bolino 2016

Kongenitalni mijastenički sindromi

Presinaptički defekt (CHA)T

Klinički simptomi

- okularni (ptoza, oftalmopareza)
- bulbarni simptomi
- generalizirana slabost miškulature
- intermitentne krize, zamaranje
- apneja, respiratorna insuficijencija
- artrogripoza



Postsinaptički defekt (CHRNE)

Dijagnoza

-morfologija

-elektrofiziologija

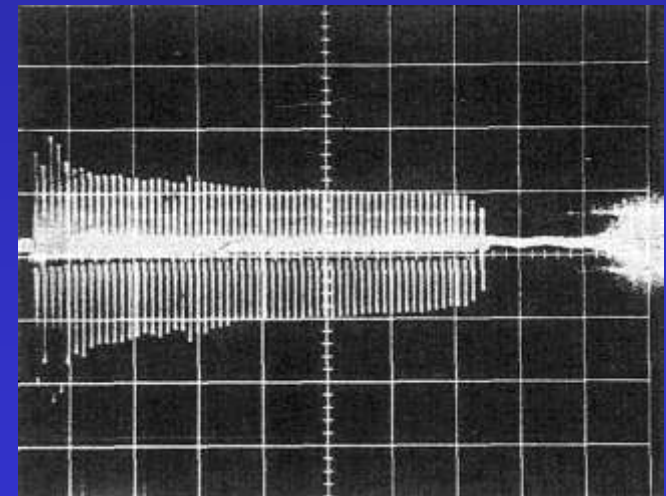
-genetika

prostigmin/edrofonij klorid
(Tensilon) test



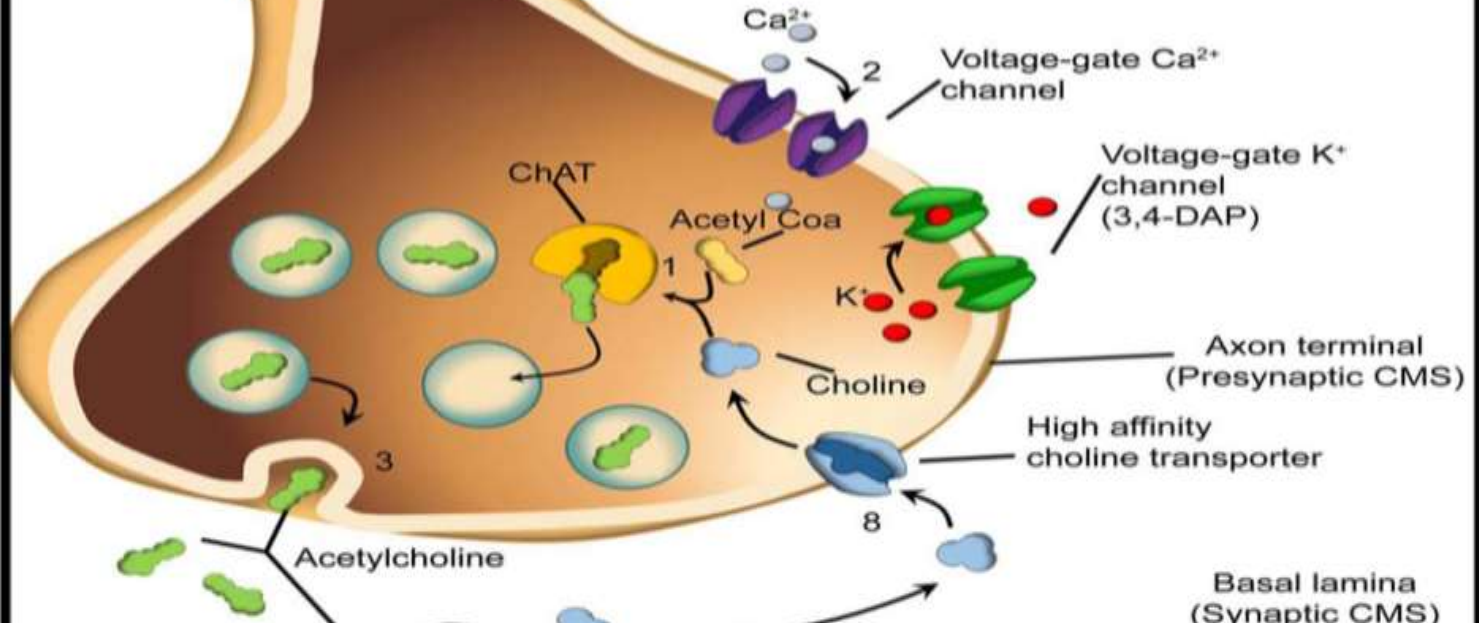
~~AChR antitijela negativna~~

repetitivna stimulacija
dekrement-single fiber
pojedinačni stimulus
repetitivni M potencijal

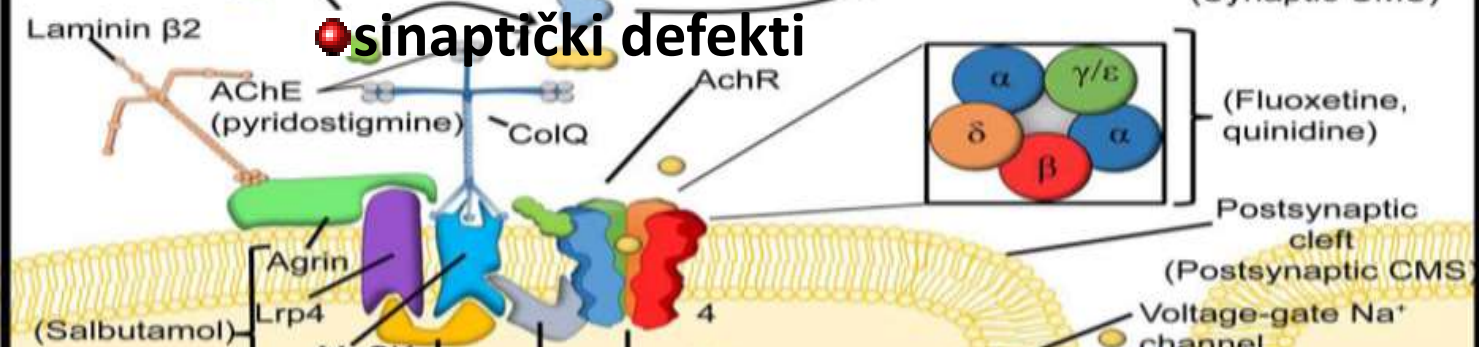


Klasifikacija KMS

presinaptički defekti



sinaptički defekti



postsinaptički defekti



Terapija kongenitalnih mijasteničkih sindroma

piridostigmin - pogoršanje u tzv KMS sa sporim kanalima (gain of function AchR), u KMS uzrokovanim mutacijama DOK7, COLQ, Musk , LAMB2

3,4 DAP (diaminopiridin) –kliničko ispitivanje faza II – presinaptički blokator K kanala za brze AChR kanale, te GFPT, DAPGT, ALG1 and 14, RAPSN mutacije-povećava oslobađanje broja kvanta ACh-

kontraindikacija-spori kanali AChR, mutacije AChE , DOK7

fluoksetin i kinidin-blokatori-za spore AChR kanale

albuterol/salbutamol i efedrin –za RAPSN, MUSK, DOK7, COLq
učinak nije razjašnjen – otvoreno kl. ispitivanje za KMS refraktorne na piridostigmin

Genska terapija-klinička ispitivanja

DOK7 - (intraperitonealno AAV9 +DOK7) uspješna(Arimura 2014)

ASO za alternativno prekrajanje za CHRNA1 gen uspješno kao i
tanička kiselina-inducira pomak eksona u CHRNA1 in vitro (Tei
2015, Bian 2009)

Referentni centar za pedijatrijske neuromuskularne bolesti, KBC Zagreb

- prof.Nina Barišić
- Dr. Ivan Lehman,
- Prof. Jadranka Sertić
- Prof. Tomislav Đapić
- Dr. A.Jakovčević, patolog
- Prof. Tješić-Drinković Duška
- Prim.dr. Milivoj Novak
- Prof. Tješić-Drinković Dorian
- Doc.dr. Daniel Dilber
- Dr. Ivana Kern
- Prof. Goran Šimić
- Dr. Hana Matković
- Dr. Ana Marija Čičak

Hvala na pažnji