

MOŻLIWOŚCI REGENERACJI W SM

(Nowe perspektywy JUŻ terapeutyczne)

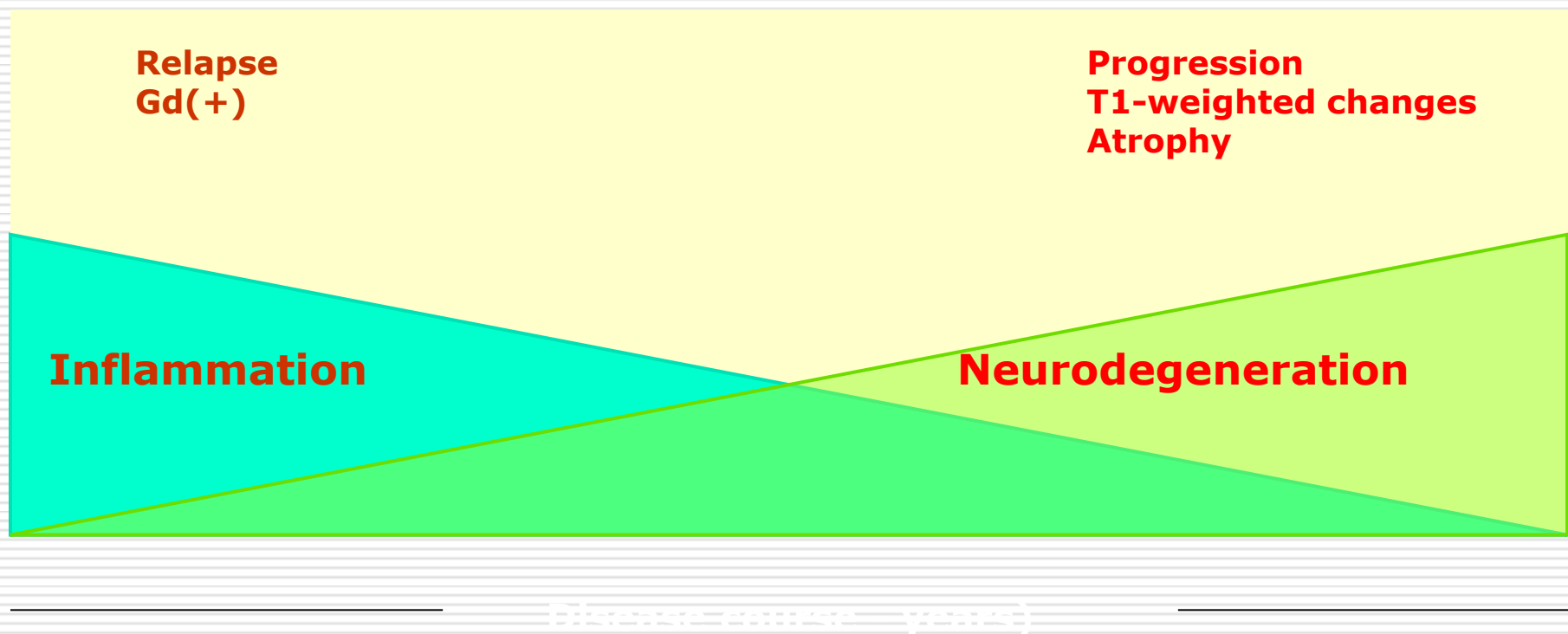
Dr n. med. Agnieszka Machlańska
PGN K.Selmaj

W SM proces zapalny, neurodegeneracja i niepowodzenie procesów naprawczych przyczyniają się do postępu niesprawności^{1,2}



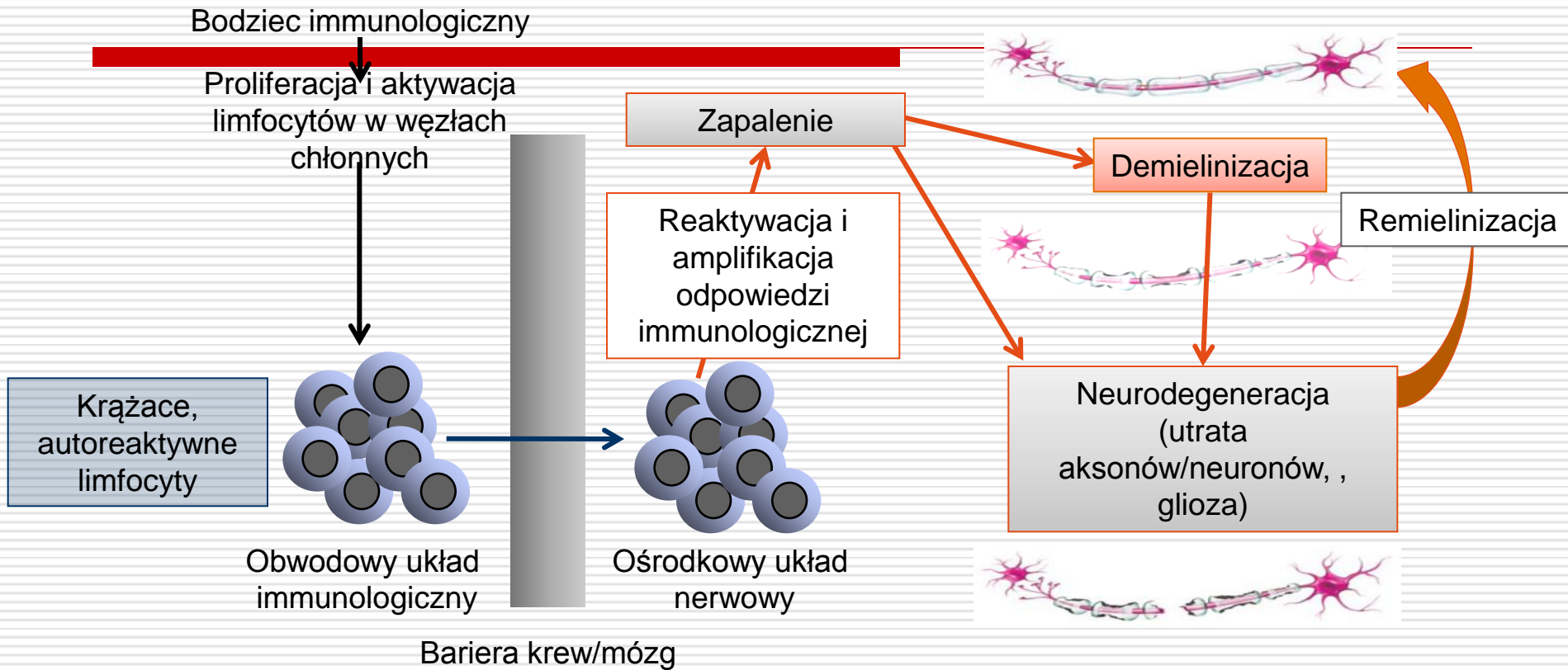
¹ Peterson LK, Fujinami RS. J Neuroimmunol. 2007;184(1-2):37-44; ² Compston A, Coles A. Lancet. 2002;359(9313):1221-31

W SM proces zapalny, neurodegeneracja i niepowodzenie procesów naprawczych przyczyniają się do postępu niesprawności^{1,2}



¹ Peterson LK, Fujinami RS. J Neuroimmunol. 2007;184(1-2):37-44; ² Compston A, Coles A. Lancet. 2002;359(9313):1221-31

Patologia SM obejmuje zarówno demielinizację jak i neurodegenerację¹



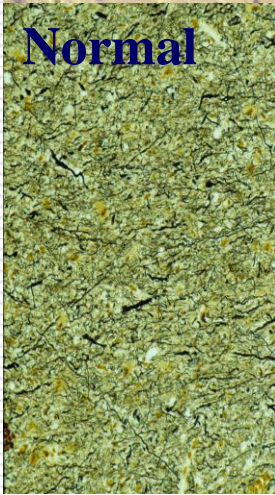
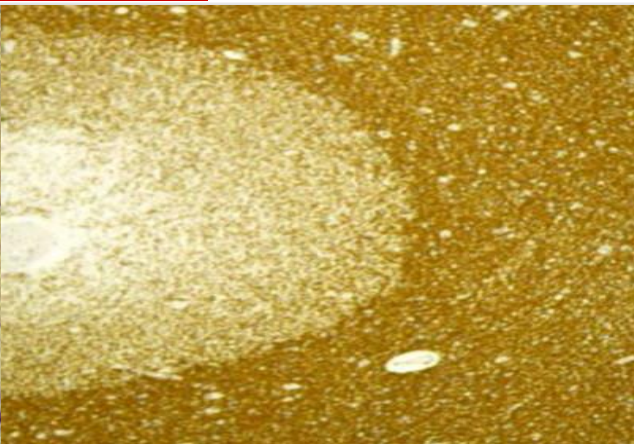
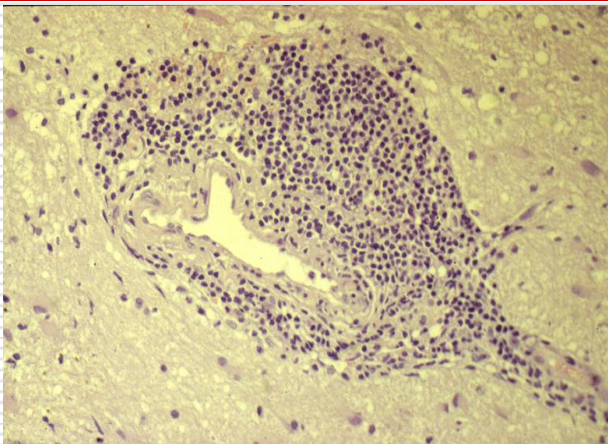
W rozwoju SM kluczowe znaczenie ma równowaga między procesami niszczenia i naprawy w OUN

¹ Barkhof F et al. *Nat Rev Neurol.* 2009;5(5):256-66;
Chun J & Hartung HP. *Clin Neuropharmacol* 2010; Mehling M et al. *Neurology* 2010;
Aktas O et al. *Nature Reviews* 2010

Obraz histopatologiczny blaszek demielinizacyjnych

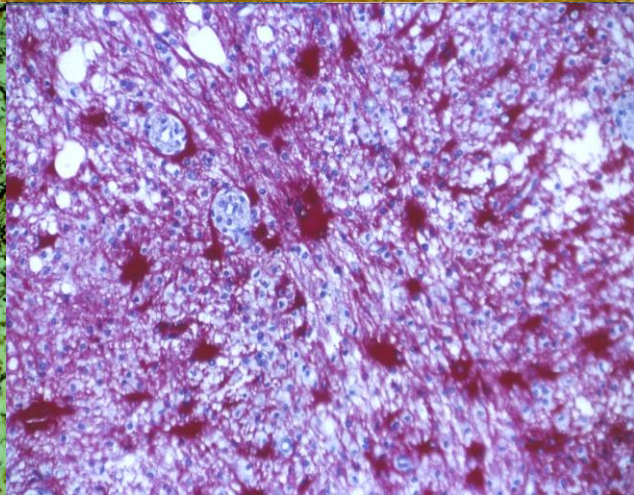
zapalenie

Demielinizacja



Normal

MS

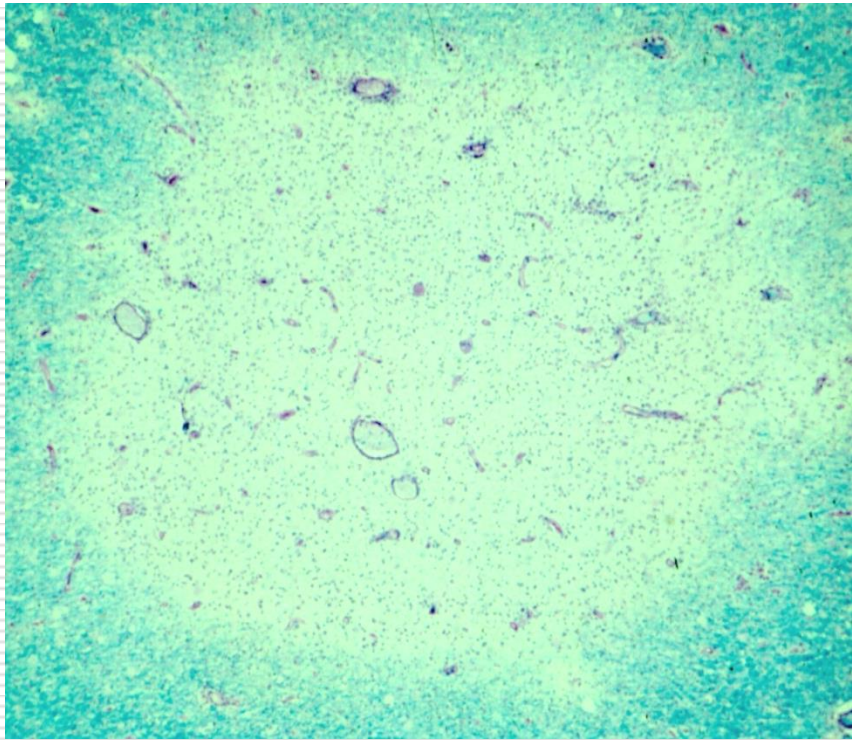


Utrata aksonów

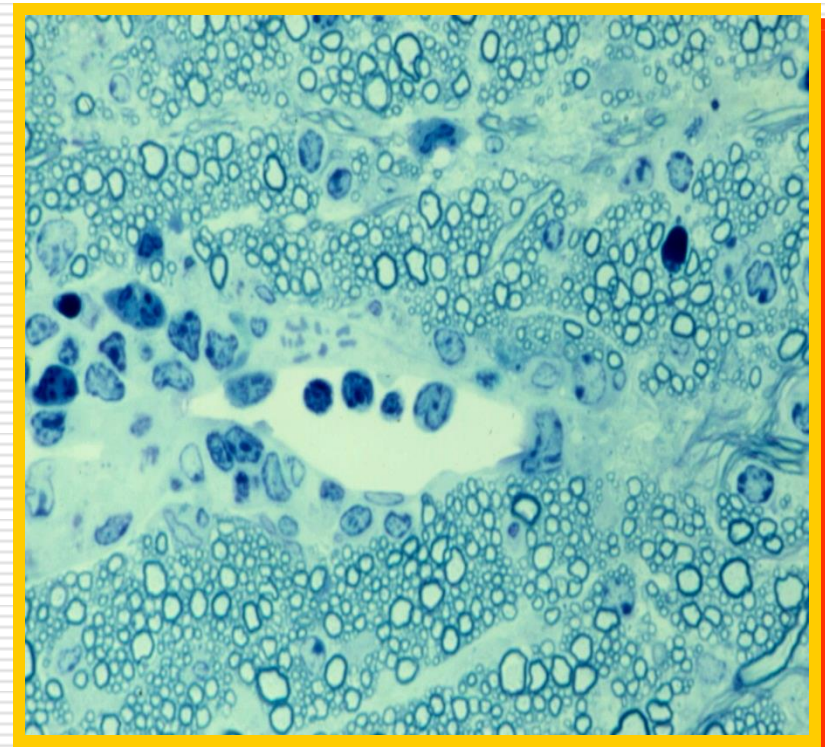
Glioza

(courtesy of W. Brück)

Wczesne plaki demielinizacyjne- aktywne zapalenie

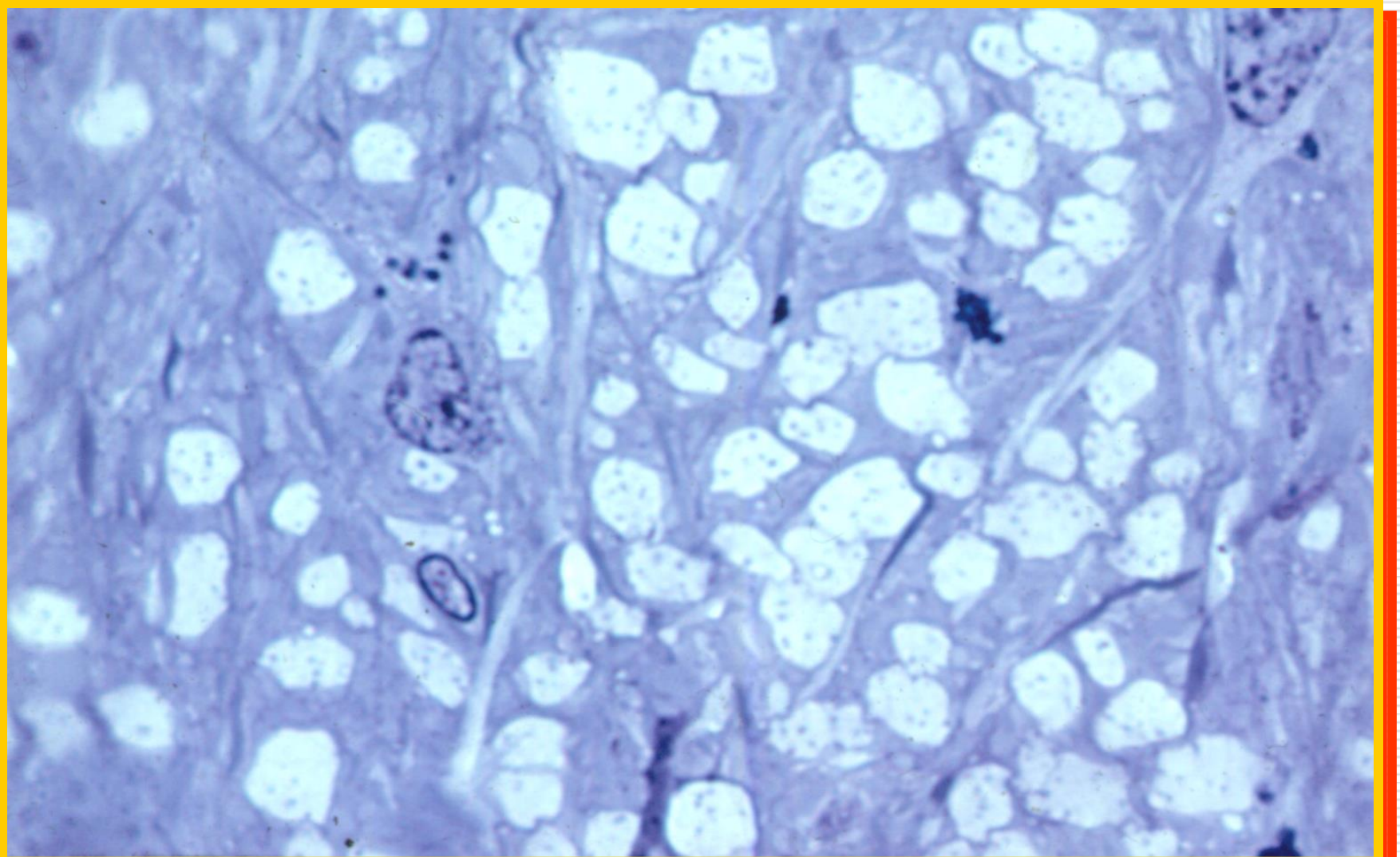


MS



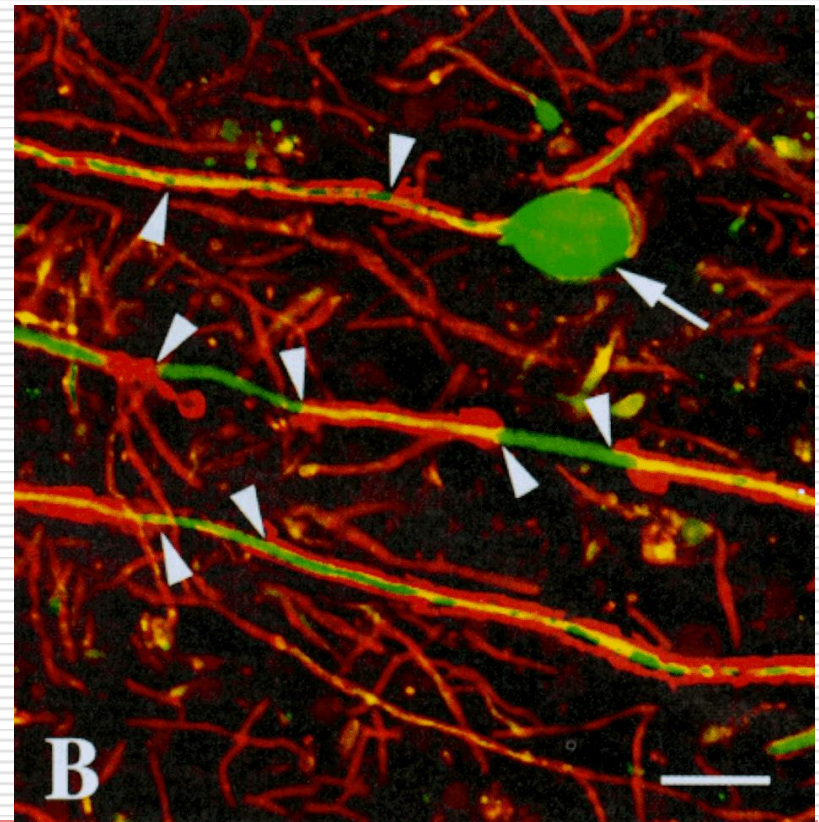
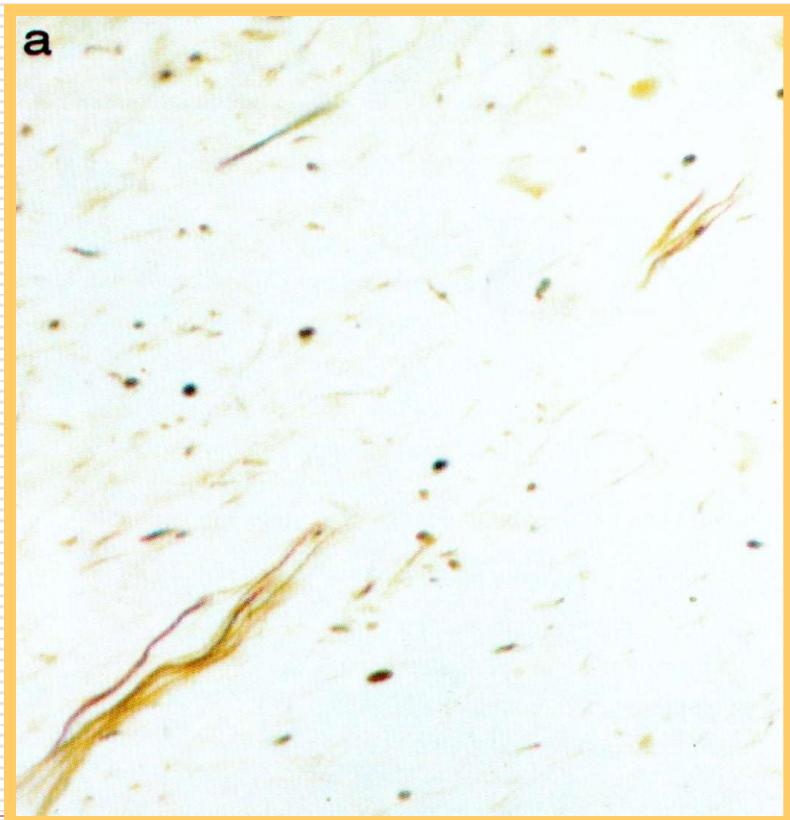
EBM

Przewlekłe plaki demielinizacyjne- nagie aksony



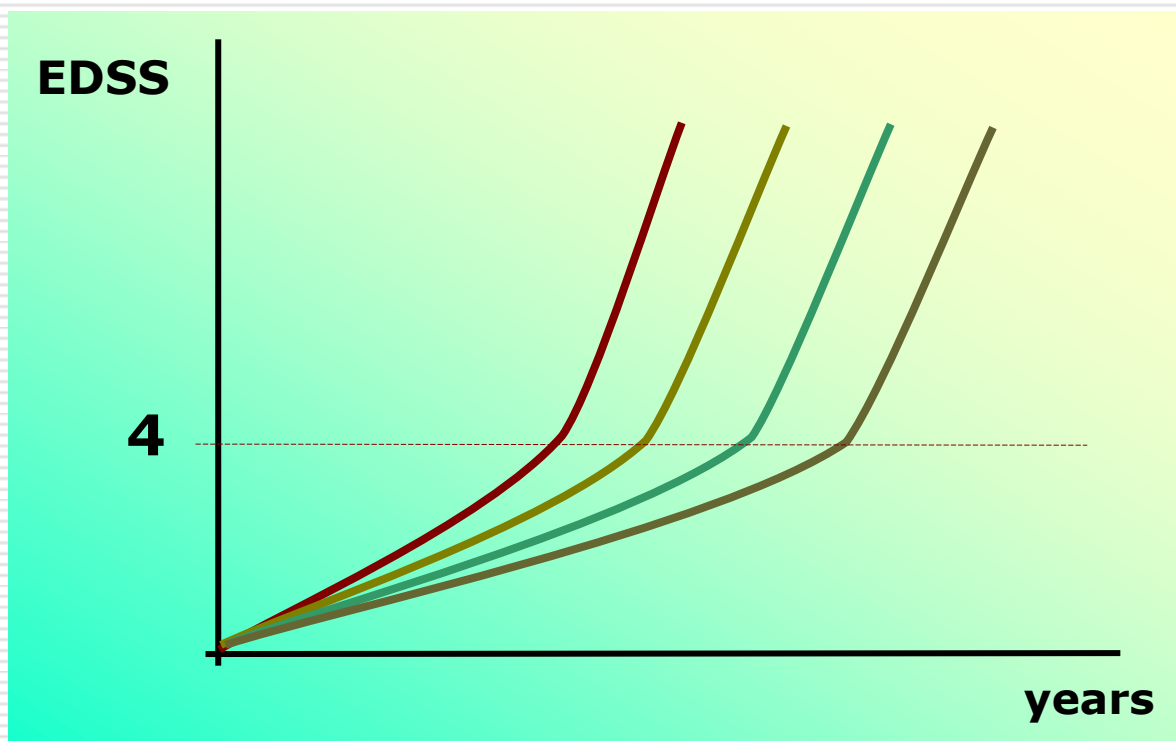
Uszkodzenie aksonów w MS

APP



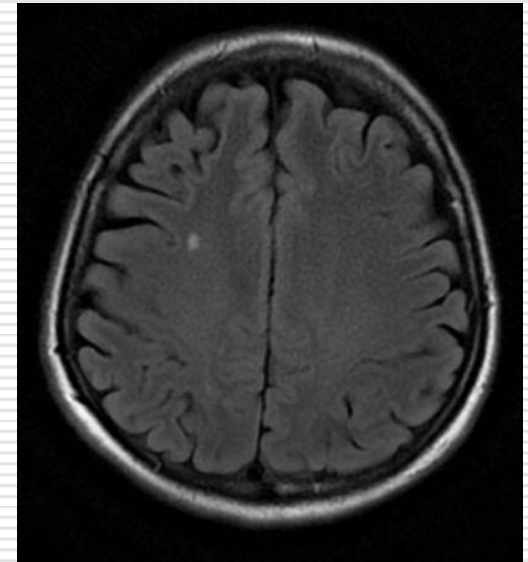
Trapp et al., NEJM 338, 278 (1998)

Stale progresja w SM RR/SP u pacjentów z EDSS > 4,0



Biomarkerem neurodegeneracji jest zmniejszenie objętości mózgowia

- Utrata mieliny i aksonów prowadzi do redukcji objętości mózgu¹
- Utrata objętości mózgu (atrofia) wiąże się w SM z zaburzeniami funkcji poznawczych oraz niesprawnością²⁻⁴
- Atrofia całego mózgu, atrofia centralna^a i objętość zmian po 1 roku pozwalają przewidzieć EDSS po 10 latach⁶



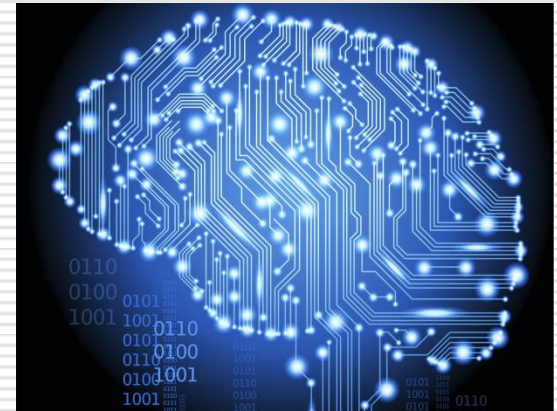
Utrata objętości mózgu jest klinicznie istotnym biomarkerem dla ilościowej neurodegeneracji i może stać się czułym miernikiem dla neuroprotekcji w badaniach klinicznych w SM.⁵

^acentral atrophy rate (procentowa zmiana objętości komór/rok) where only brain/non-brain edge points on the ventricular edges were selected and their mean edge displacement was calculated.

²Simon JH. Mult Scler. 2006;12(6):679-87 ² Calabrese M et al. Arch Neurol. 2009;66(9):1144-50; ³Prinster A et al. Mult Scler. 2010;16(1):45-54 ⁴Minneboo A et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2008;79(8):917-23; ⁵Zivadnov R, Bakshi R. J Neuroimaging. 2004 ;14(3 Suppl):27S-35S; ⁶Popescu V et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2013; 84(10):1082-91;

Zaburzenia poznawcze w SM

- Występują u 40-65% pacjentów z SM
- Są niezależnie od innych objawów
- Mają charakter postępujący
- U większości są łagodne lub umiarkowane ale pogarszają jakość życia
- Obecnie nie ma leczenia takich zaburzeń



Remielinizacja jako cel terapeutyczny

- Wszystkie zarejestrowane terapie SM mają charakter immunomodulacyjny (hamują zmiany zapalne)
 - Zmiany degeneracyjne stanowią istotny element patologii SM
 - W MS (SMRR, SMSP, SMPP) występują również zaburzenia remielinizacji zarówno w istocie szarej jak i białej
 - Remielinizacja powoduje poprawę prędkości przewodzenia, przywraca prawidłową dystrybucję kanałów jonowych wzdłuż aksonów, powoduje poprawę procesów energetycznych w aksonach
 - Remielinizacja może być najlepszym sposobem na zatrzymanie degeneracji aksonów
-

Leki wpływające na zahamowanie neurodegeneracji

Fingolimod

Siponimod



Anty-Nogo

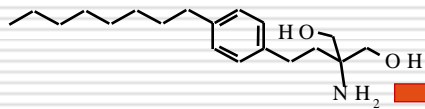
Anty-Lingo-1

Fingolimod

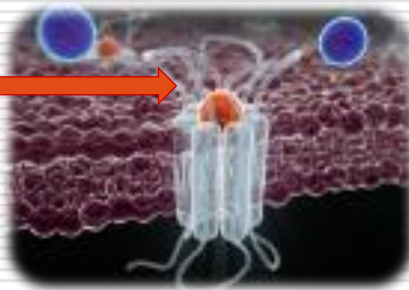
Fingolimod przekracza barierę krew-mózg dzięki swojemu lipofilnemu charakterowi^{1,2}

Neurony, astrocyty i oligodendrocyty wykazują ekspresję receptora S1P³

Biologia S1P jest istotna w patologii SM dla przeżycia komórek, mielinizacji i ich różnicowania⁴



Fingolimod



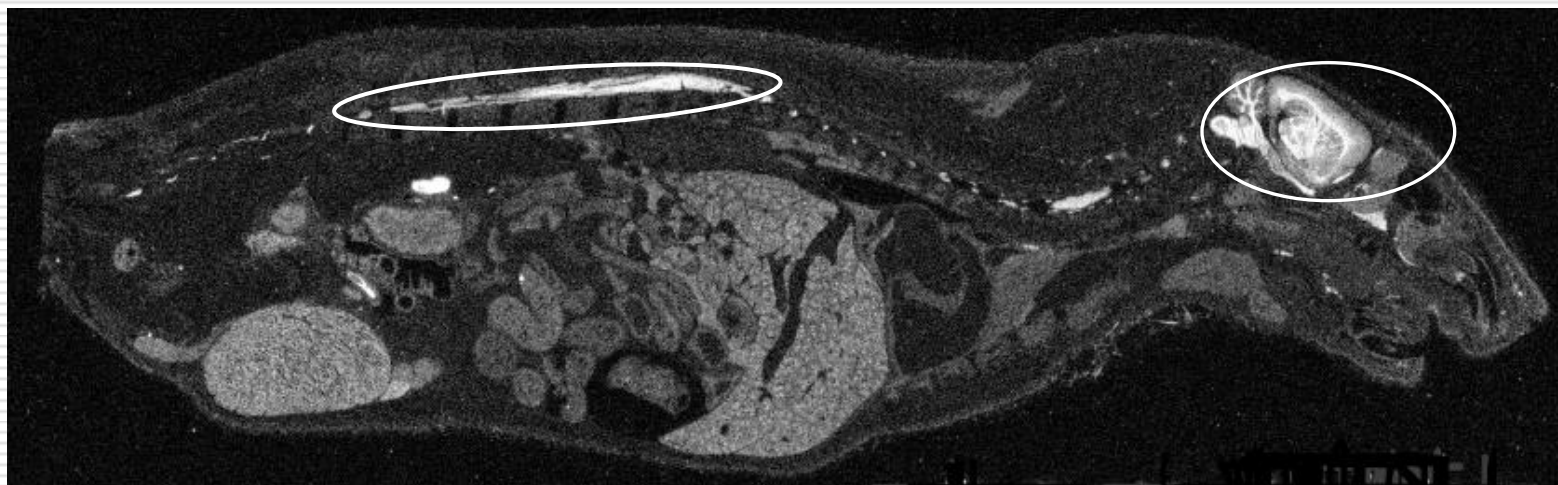
S1P

Astrocyte S1P ₁ and S1P ₃		Proliferation, migration, gap junction communication, growth factor production
Oligodendrocyte S1P ₁ , S1P ₃ and SIP ₅		Survival, migration, differentiation, morphology (process extension and retraction)
Neuron S1P ₁ , S1P ₂ and SIP ₃		Neurogenesis, neural progenitor migration, survival, neurotransmission
Microglia S1P ₁ , S1P ₂ and SIP ₃		Pro-inflammatory cytokine production

*

¹Foster CA et al. J Pharmacol Exp Ther. 2007;323(2):469-75; ²Tamagnan GD et al. Poster P839 presented at ECTRIMS 2012; ³Chun J, Hartung HP. Clin Neuropharmacol. 2010;33(2):91-101; ⁴Groves A et al. J Neurol Sci. 2013;328(1-2):9-18
*Figure from Soliven B et al. Neurology. 2011;76(8 Suppl 3):S9-14

Fingolimod



Autoradiografia w mikroskopie świetlnym u szczurów po wielokrotnym doustnym podaniu dawek [¹⁴C]-fingolimodu

(7.5 mg/kg p.o. 1xdz. przez 7 dni)


Średnie (SE) poziomy ekspozycji u szczurów (dark agouti strain; 0.3 mg/kg p.o. przez 23 dni)

	Poziom CSF (n = 6)	
	FTY720	FTY720-P
Stężenie w ng/ml	0.07 (0.02) ng/ml	0.23 (0.17) ng/ml
Stężenie w nM*	0.20 (0.06) nM	0.59 (0.44) nM

*obliczone na podstawie masy cząsteczkowej and ng/ml

Dowody z badań przedklinicznych

- Delecja receptorów S1P₁ i S1P₅ w komórkach OUN zmniejszały nasilenie EAE i powodowały brak reakcji myszy z EAE na fingolimod^{1,2}
- Delecja receptora S1P₁ w komórkach nerwowych lub leczenie fingolimodem zmniejszały nasilenie astrogliozy, demielinizacji i utraty aksonów w EAE^{1,2}
- Fingolimod przywracał przewodnictwo nerwowe i funkcje ruchowe w EAE^{3,4}
- Fingolimod poprawiał parametry remielinizacji po wywołanej laboratoryjnie demielinizacji (badanie *in vitro*)⁵
- Fingolimod zmniejszał nasilenie demielinizacji i aktywacji mikrogleju niezależnie od nacieków limfocytarnych (model nadwrażliwości późnej)⁶



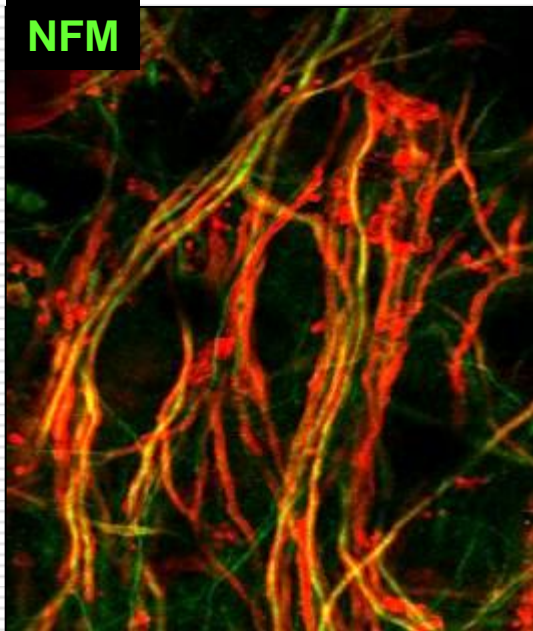
Fingolimod może wywierać bezpośredni korzystny wpływ na OUN.

EAE - experimental autoimmune encephalomyelitis

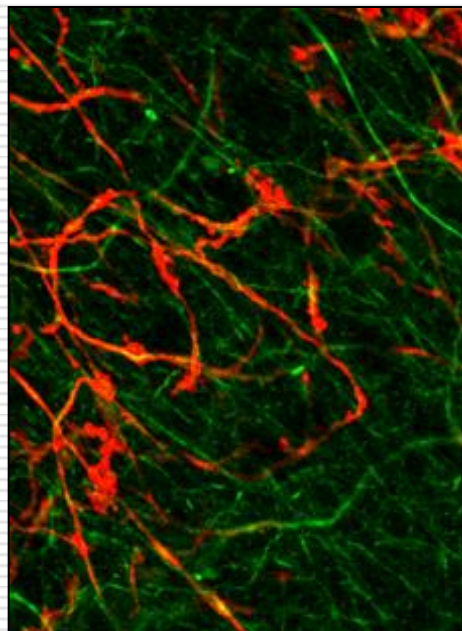
1. Choi JW *et al. Mult Scler* 2009; P227; 2. Choi MW *et al. Mult Scler* 2010; P834; 3. Balatoni B *et al. Brain Res Bulletin* 2007; 4. Rossi S *et al. Mult Scler* 2009; P595; 5. Miron VE *et al. Am J Pathol* 2008; 6. Anthony DC *et al. Mult Scler* 2010; P814

Fingolimod poprawia odbudowę mieliny w hodowlach tkankowych

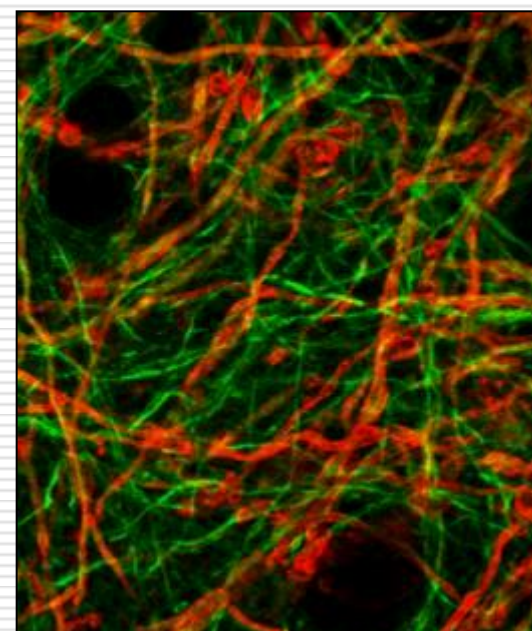
MBP
NFM



Hodowla 21-dniowa *in vitro*
Przed podaniem lizolektyny¹



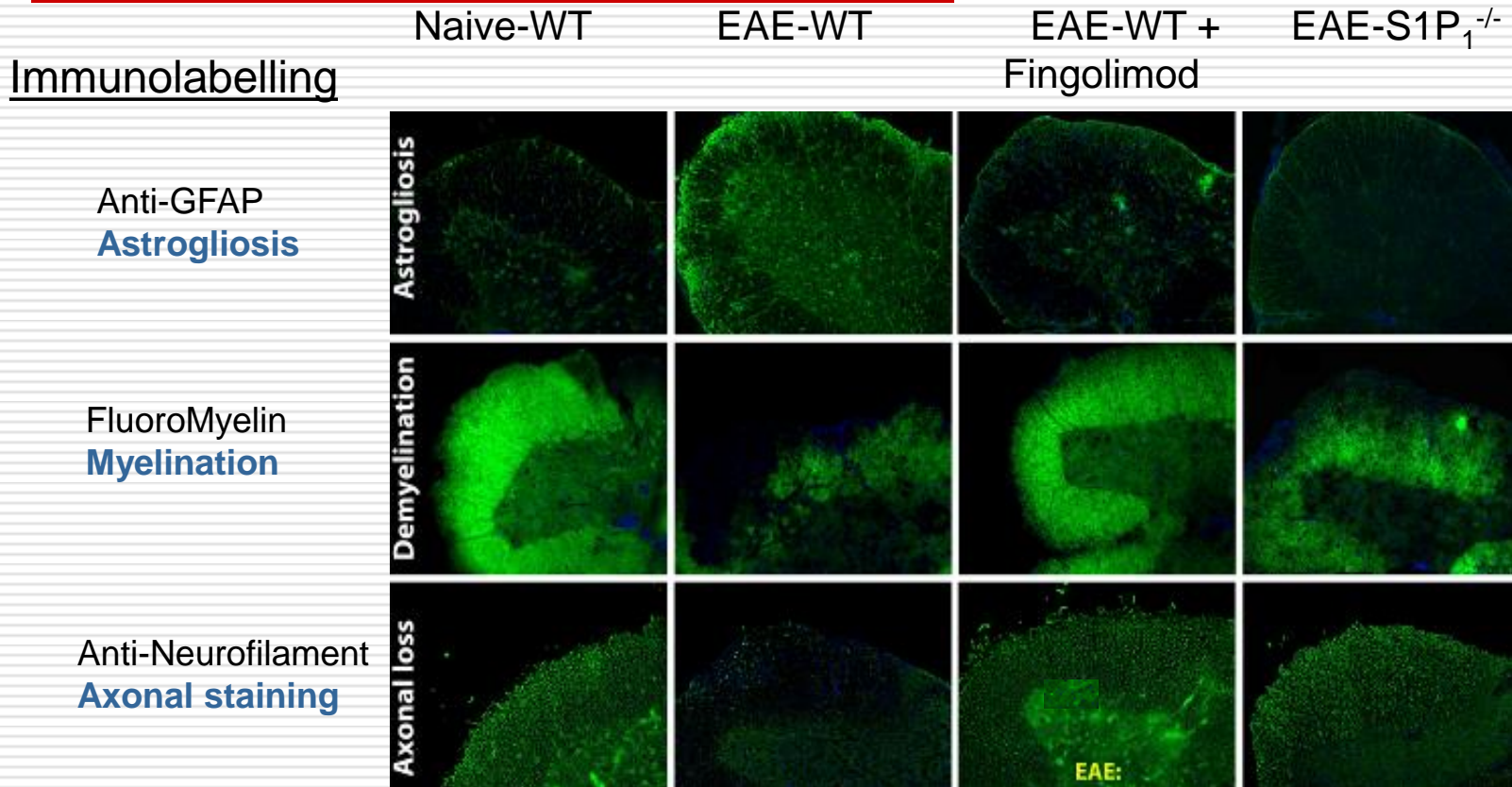
Hodowla 14-dniowa *in vitro*
Nieleczona
Po podaniu lizolektyny



Hodowla 14-dniowa *in vitro*
Fingolimod 100 pM
Po podaniu lizolektyny

Istotnie większa ilość mieliny w hodowli potraktowanej fingolimodem w porównaniu z kontrolą sugeruje możliwość bezpośredniego wpływu na remielinizację

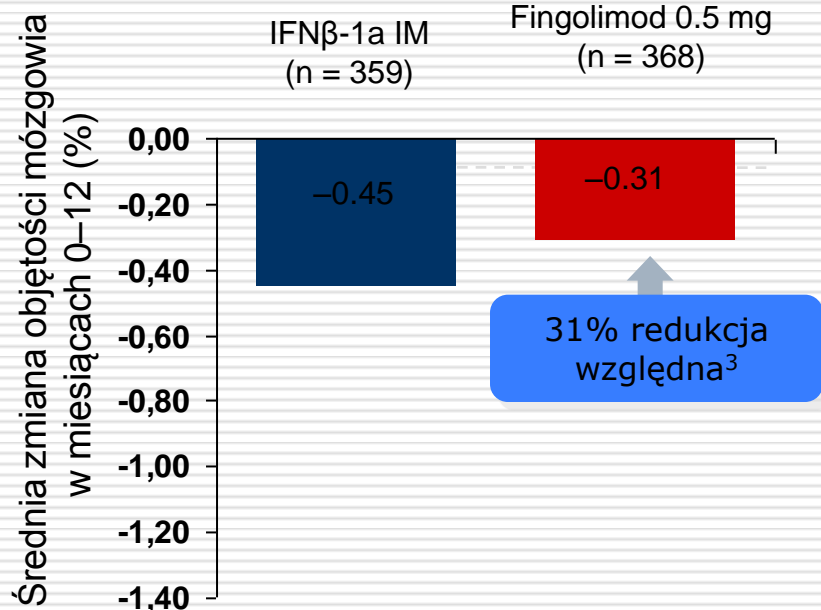
Fingolimod lub delecja $S1P_1$ z komórek nerwowych zmniejsza astrogliozę, demielinizację i utratę aksonów w EAE



Fingolimod istotnie zmniejszył nasilenie zaników mózgowia w porównaniu do IFNβ-1a IM i placebo

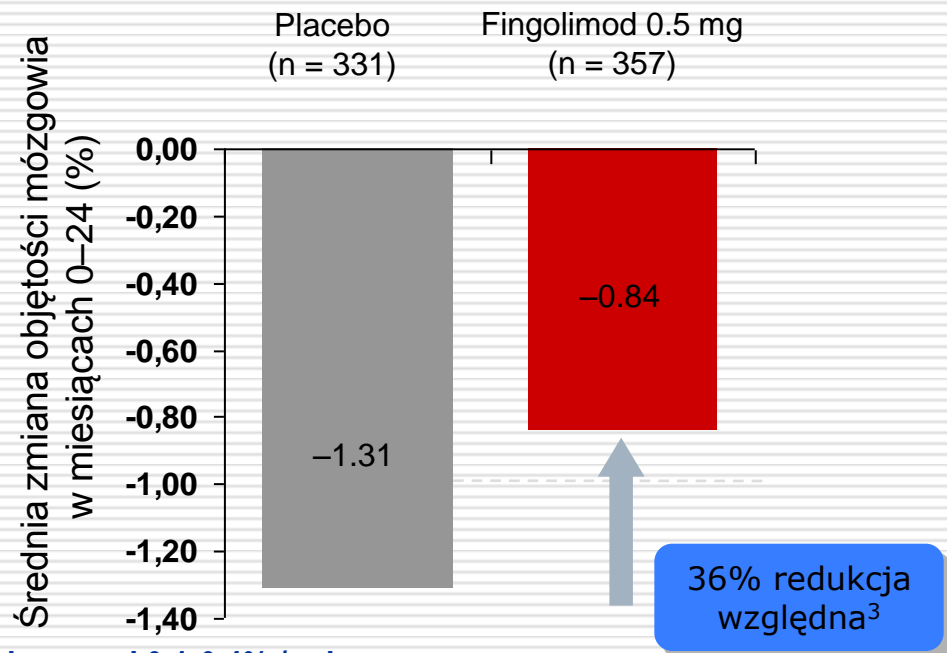
TRANSFORMS obserwacja roczna¹

$p < 0.001$ vs IFNβ-1a IM^a



FREEDOMS obserwacja dwuletnia²

$p < 0.001$ vs placebo^a



- Średnie tempo zaników tkanki mózgowej u osób zdrowych wynosi 0,1-0,4% / rok.
- Średnie tempo zaników tkanki mózgowej u nieleczonych pacjentów z SM wynosi ok. 0,5-1,0% / rok³

^aTest ANCOVA z uwzględnieniem grupy leczenia, kraju, oraz wejściowej znormalizowanej objętości mózgowia.

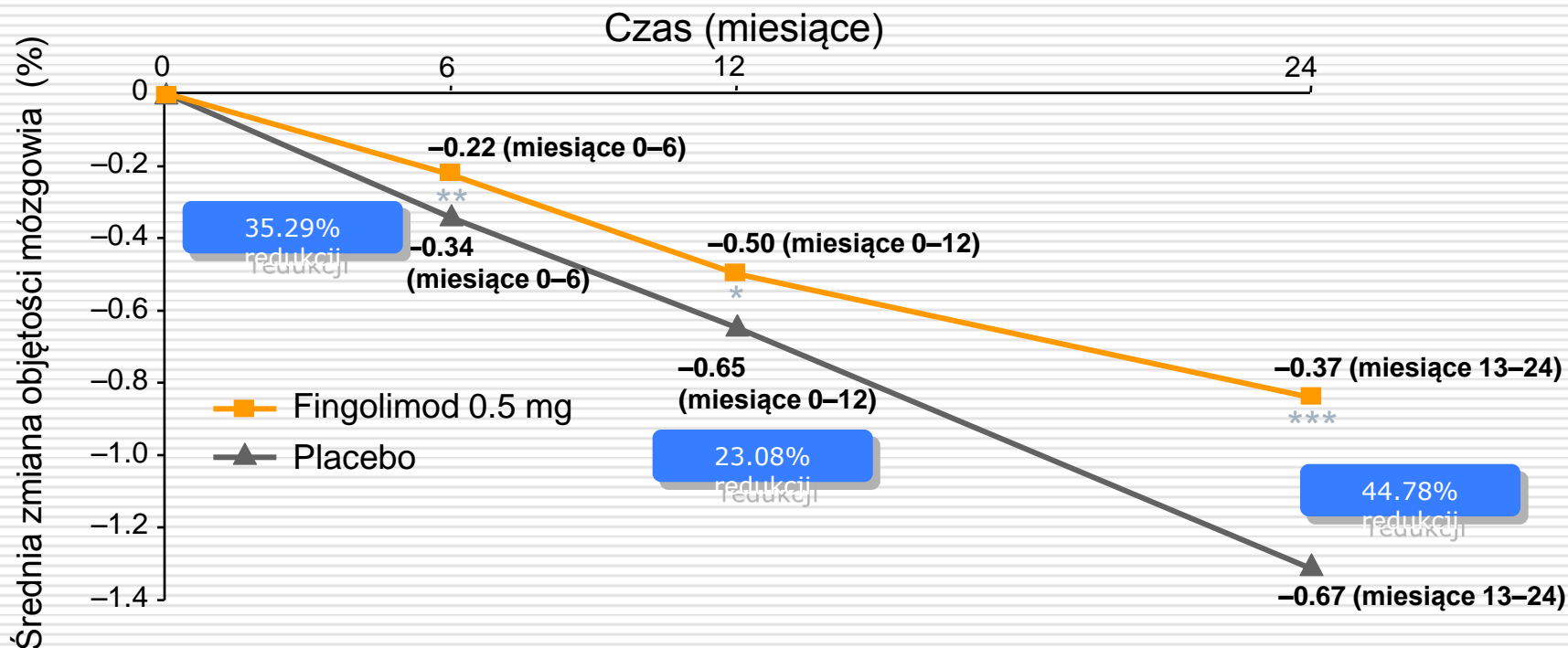
N odpowiada liczbie pacjentów z dla których dostępne były dane MRI. 1. Cohen JA *et al.* *N Engl J Med* 2010.

2. Kappos L *et al.* *N Engl J Med* 2010. 3. FDA Advisory Committee presentation (10 June 2010).

3. Barkhof F *et al.* *Nat Rev Neurol* 2009;5:256-266

Terapia fingolimodem konsekwentnie powoduje redukcję atrofii mózgu w porównaniu do placebo już od 6 miesiąca terapii

FREEDOMS 2-letnie wyniki¹



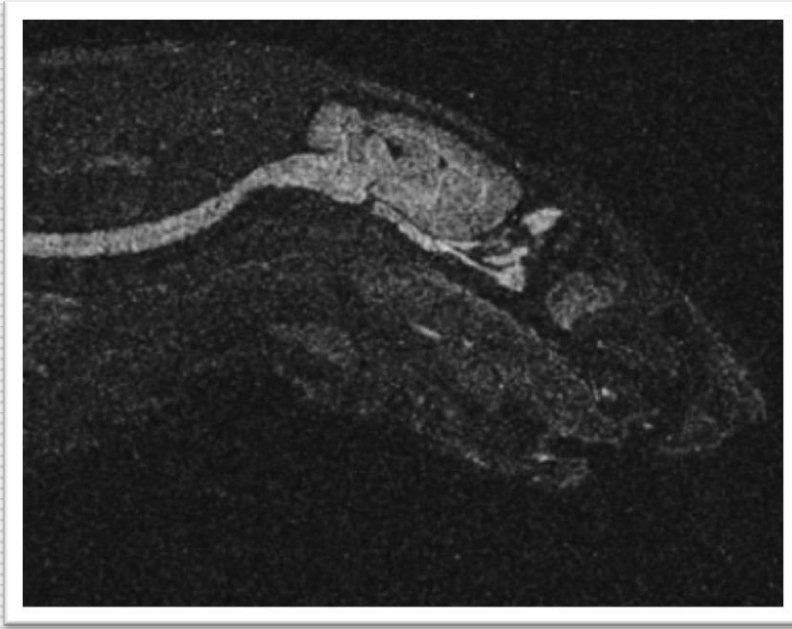
** $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p \leq 0.001$ dla fingolimodu vs placebo. ^aTest ANCOVA z uwzględnieniem grupy leczenia, kraju, oraz wejściowej znormalizowanej objętości mózgowia.. 1. Kappos L *et al.* *N Engl J Med* 2010;362:387-401.

BAF 312 (Siponimod)

- Siponimod selektywnie wiąże się z podtypami 1 i 5 receptora S1P²
- Nowy chemotyp; nie jest to prolek
- Lipofilny – z łatwością przekracza barierę krew-mózg^{1,3,4}
- Szybka rekonstrukcja immunologiczna: okres półtrwania ~30 godzin; wash-out: 6 dni²
- Siponimod zmniejsza ekspresję S1P₁ na astrocytach i komórkach endotelialnych w obrębie przewlekłych zmian w SM³
- Siponimod zmniejsza reaktywność S1P₅ w plakach demielinizacyjnych, co koreluje z redukcją utraty mieliny³



BAF 312 (Siponimod)



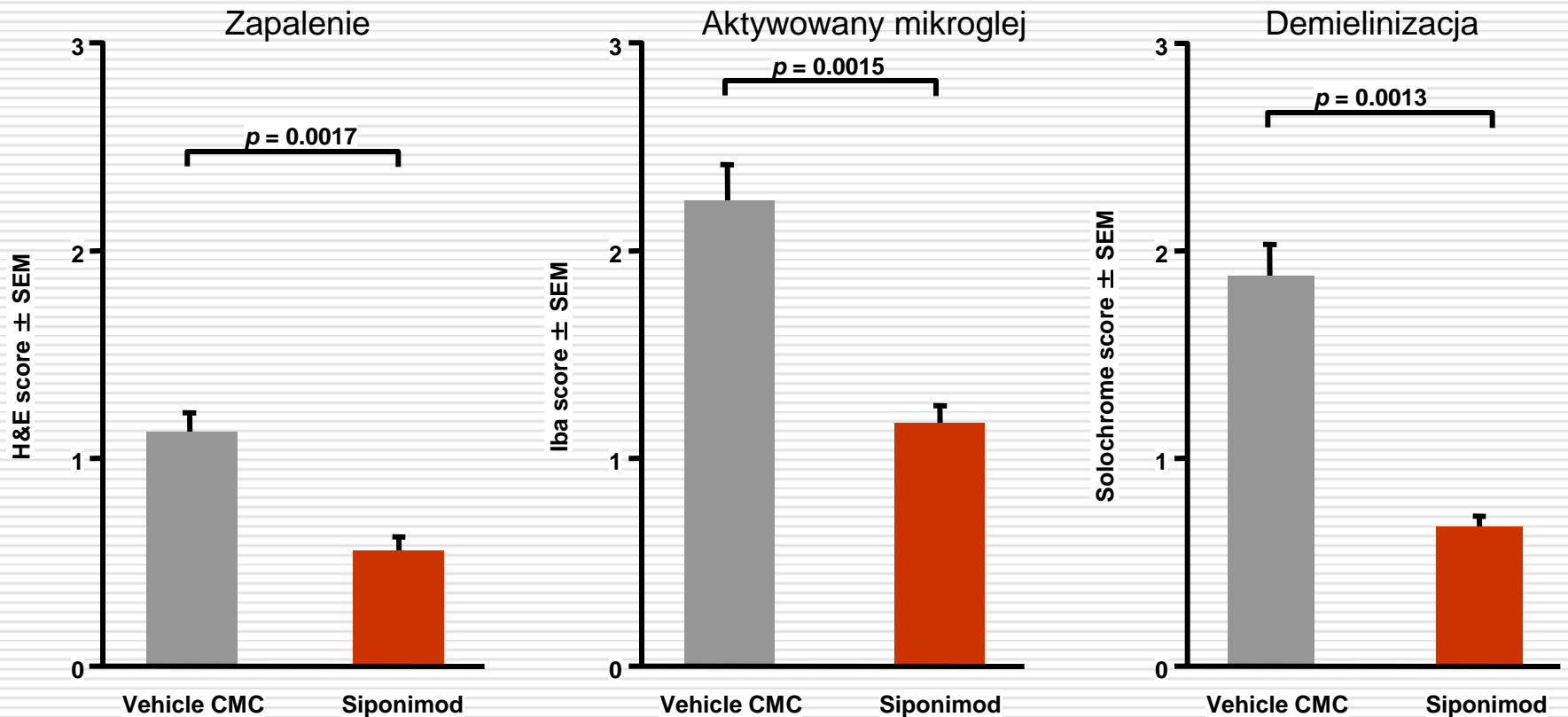
Aktywność w OUN

- Zmniejszone nasilenie objawów choroby (zależna od dawki redukcja clinical disease scores u szczurów modelu EAE¹)
- Wycofanie przewlekłego porażenia neurologicznego oraz zmniejszenie procesu zapalnego i demielinizacji u myszy EAE²

Autoradiografia szczurów 24 godziny po podaniu 3 mg/kg dawki doustnej [¹⁴C]siponimodu wykazuje ekspozycję na lek w obrębie OUN¹

BAF 312 (Siponimod)

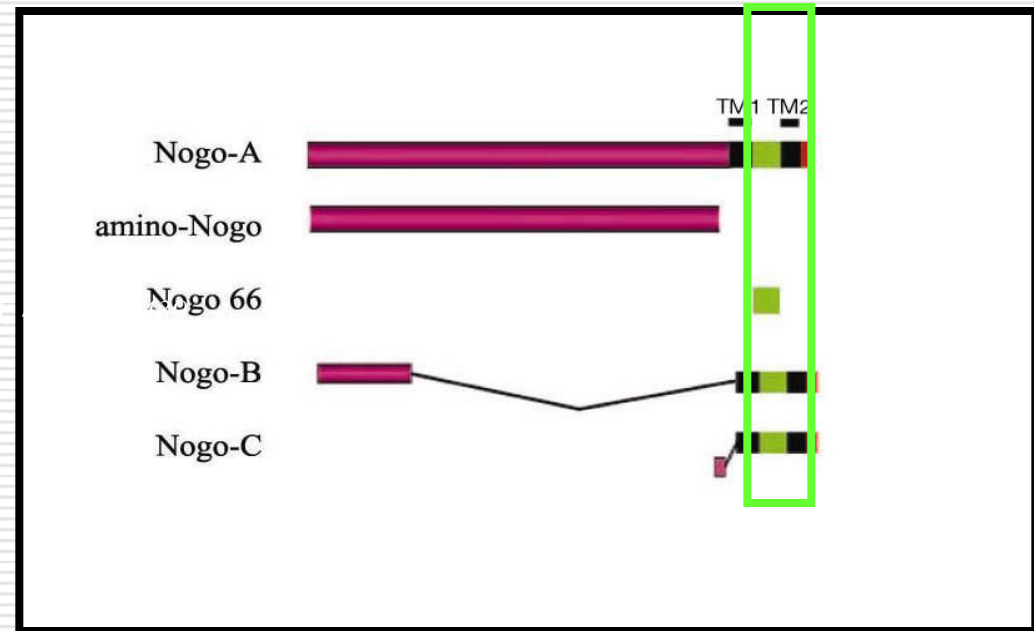
cofnął przewlekłe neurologiczne porażenie oraz zredukował proces zapalny i demielinizację u myszy EAE¹



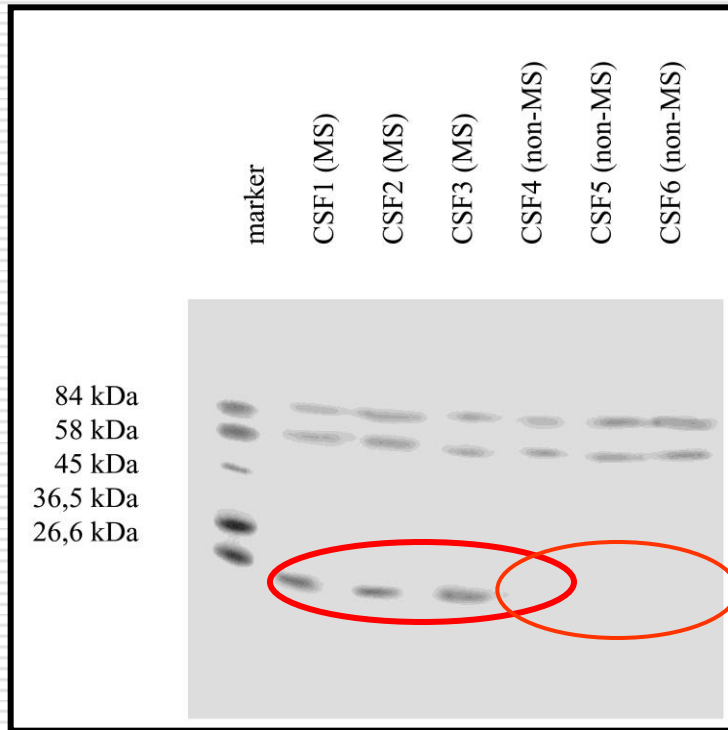
¹Seabrook T, *et al. Mult Scler.* 2010;16:S301.
SEM, standard error of the mean.

Białka Nogo

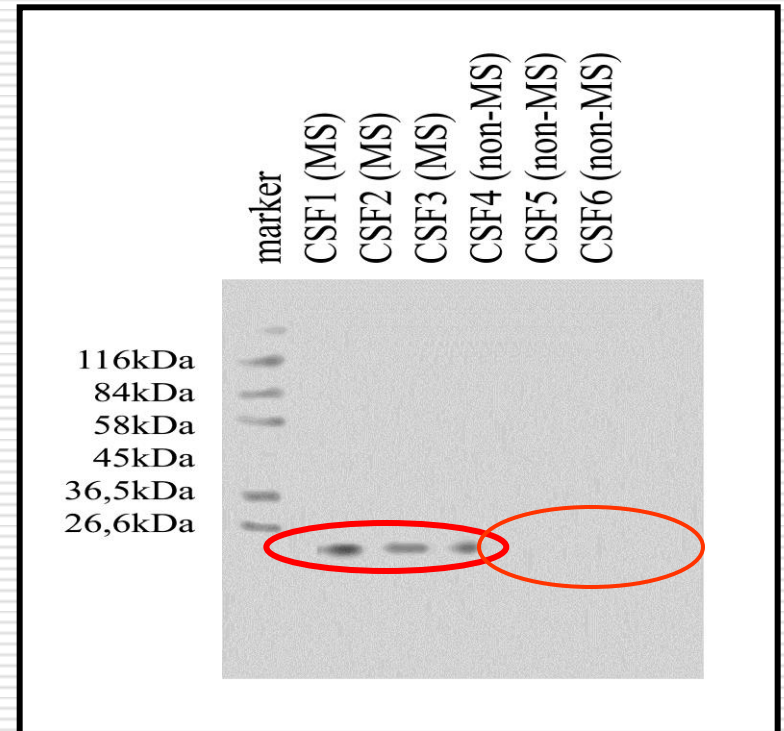
- Istnieją 3 izoformy, którym odpowiada jeden gen
 - ✓ **Nogo A** – wykazano jego obecność na ologodendrocytach i neuronach
 - ✓ **Nogo B** – na wszystkich komórkach
 - ✓ **Nogo C** – ekspresja na komórkach mięśniowych
 - ✓
- **Białka Nogo hamują odbudowę aksonów po ich uszkodzeniu**



Nogo A (20kDa) występuje w pmr pacjentów chorych na SM



Detection of 20kDa NogoA product with Ab sc 11032 (Santa Cruz)

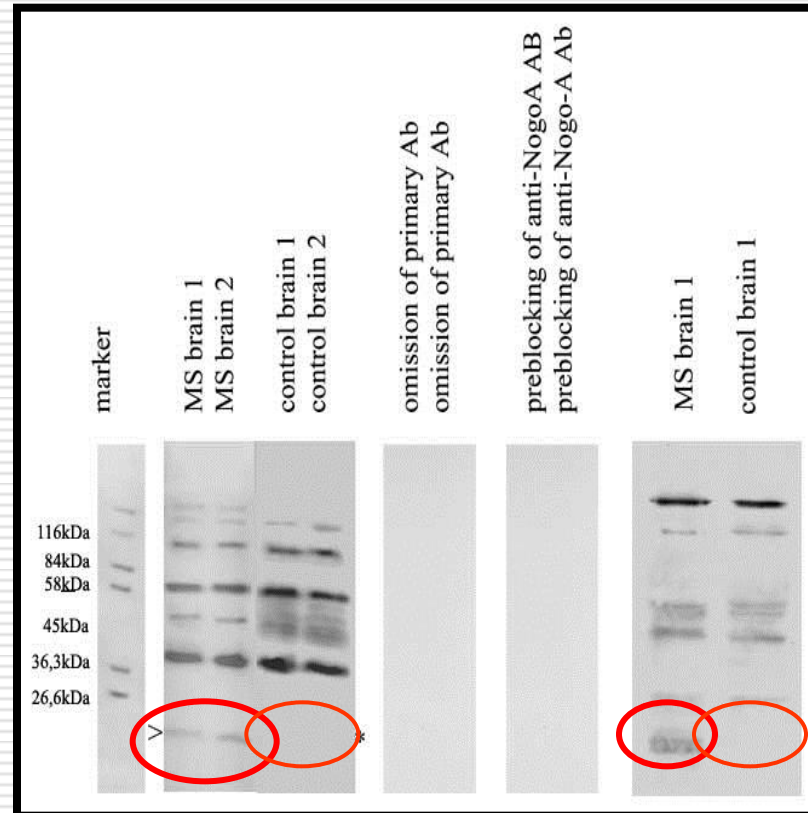


Detection of 20kDa NogoA product with Ab AB5888 (Chemicon)

Obecność produktu NogoA w pmr

	Nogo A positive	Nogo A negative
MS	147	4
CIS	11	0
Neuromyelitis optica	0	9
Meningo-encephalitis	0	18
Other autoimmune diseases affecting CNS	0	10
Other CNS diseases	0	142

Obecność produktu 20kDa NogoA w tkance mózgowej chorych na SM

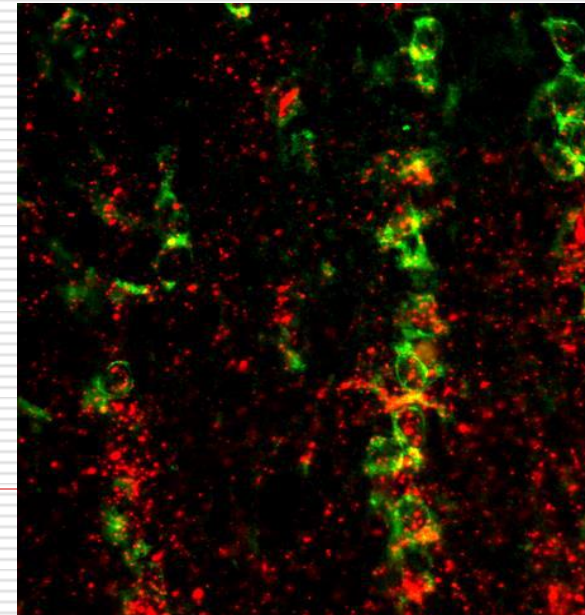
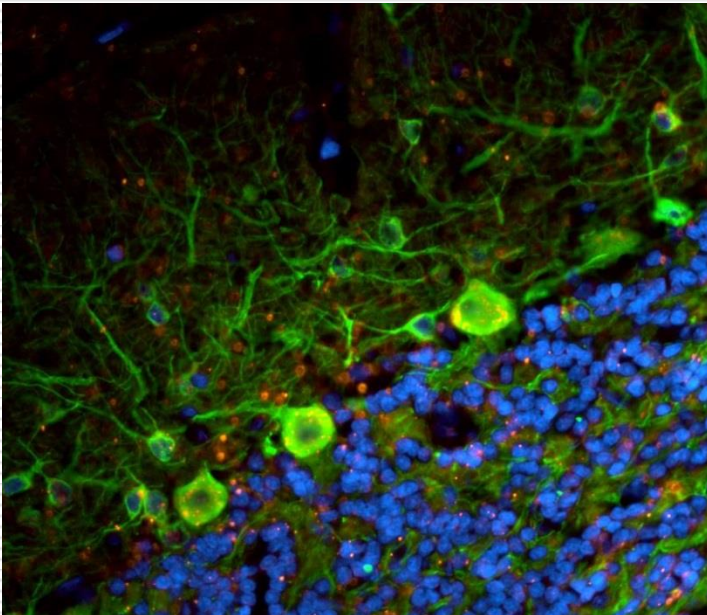


sc-11032

AB5888

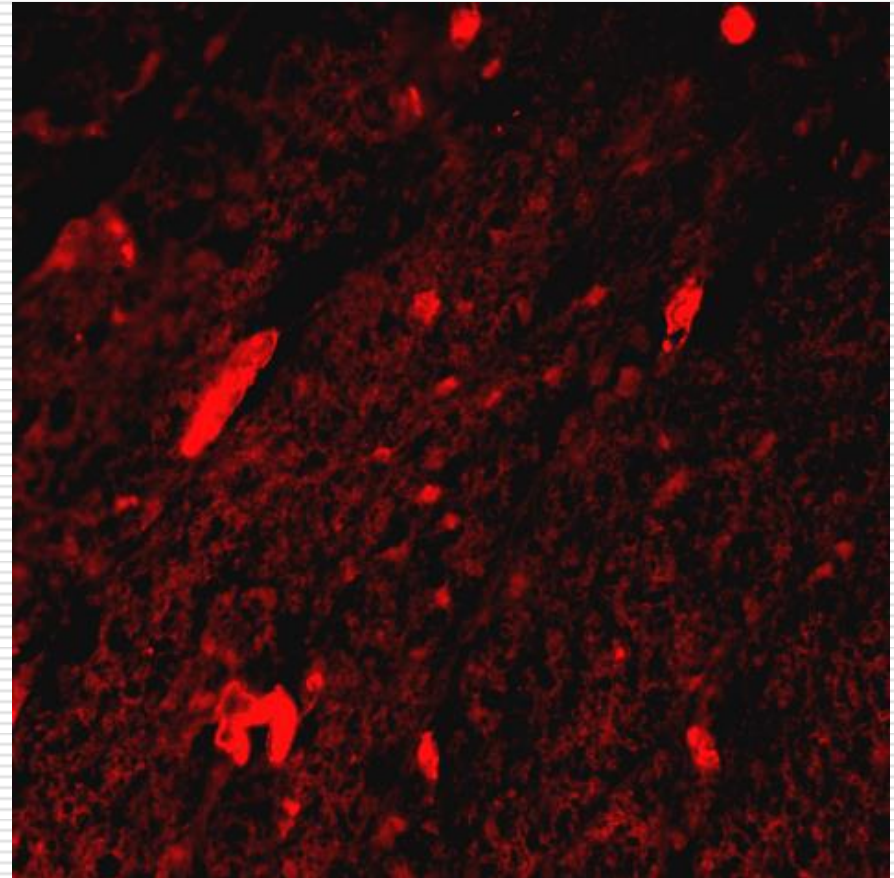
LINGO-1

- specyficzny dla OUN gen dla białka błonowego: *Leucine Rich Repeats and an Immunoglobulin-like Domain Containing NOGO Receptor Interacting Protein-1*
- Wysoce konserwatywny: 99,5% zgodność u ludzi i szczurów
- Ulega ekspresji na neuronach i oligodendrocytach
- Hamuje mielinizację



LINGO-1

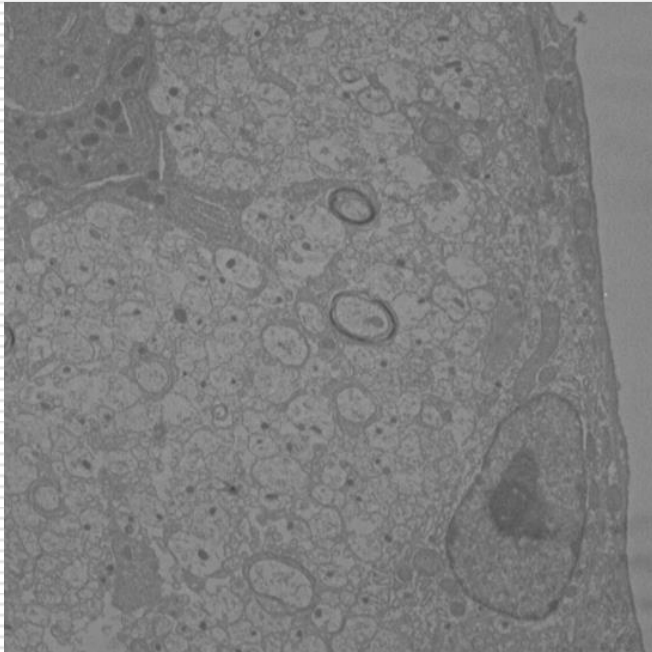
- Ekspresja Lingo-1 na komórkach progenitorowych oligodendrocytów w plakach demielinizacyjnych
- Ekspresja Lingo-1 spada w trakcie dojrzewania OPC



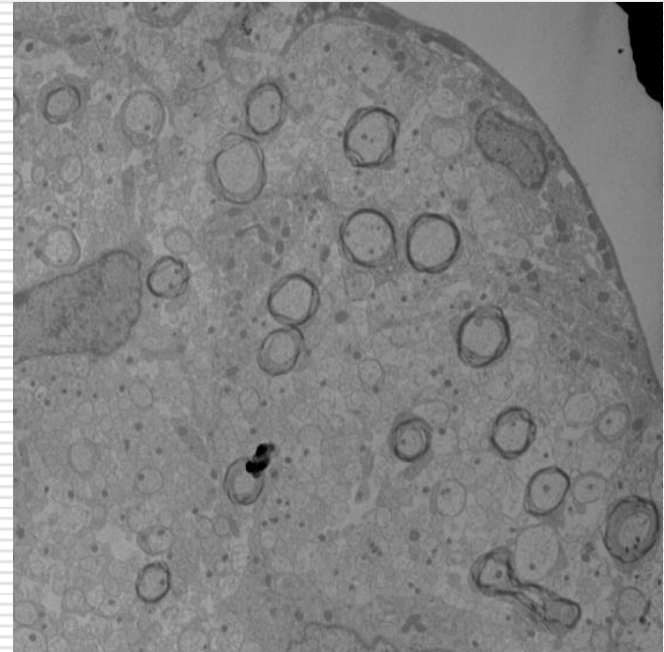
LINGO-1

U myszy pozbawionych lingo-1 obserwuje się wczesną remielinizację w uszkodzonym rdzeniu kręgowym

WT



LINGO-1 KO



No apparent developmental or behavioral abnormalities compared to wild type (WT) mice [Lee 2007; Mi 2005]

LINGO-1

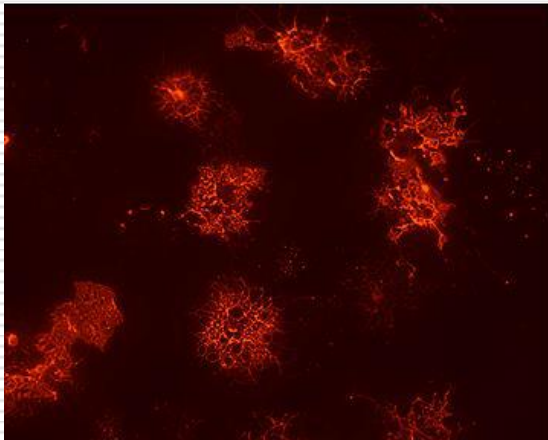
U myszy pozbawionych lingo-1 obserwuje się wcześniejszą mielinizację OUN w trakcie ontogenezy



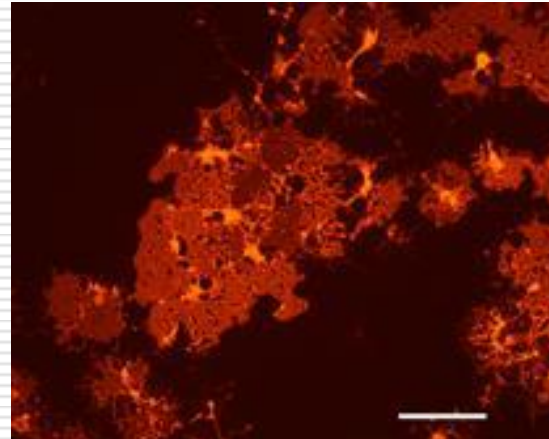
LINGO-1

Zablokowanie ekspresji lingo-1 przy użyciu interferujących RNA (si RNA) również promuje różnicowanie oligodendrocytów

Control RNAi



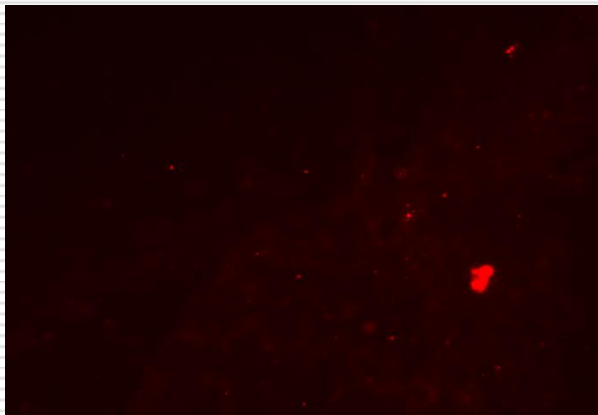
LINGO-1 RNAi



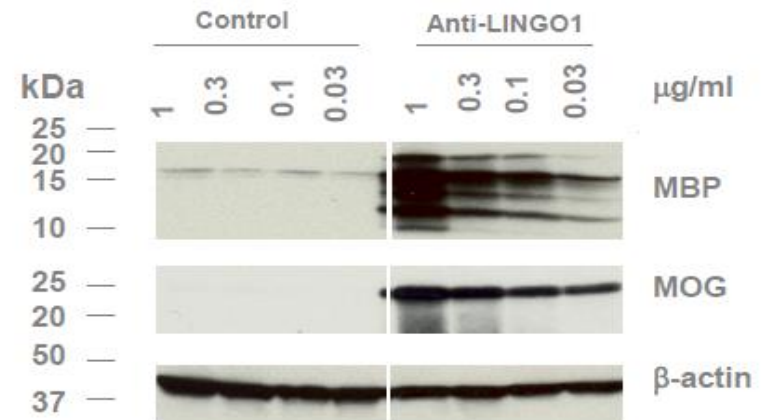
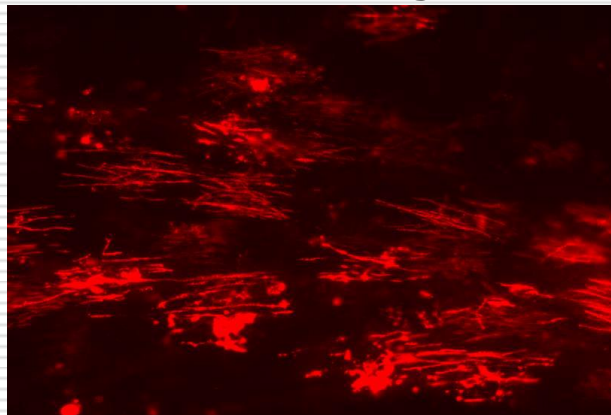
LINGO-1

Przeciwciała przeciw lingo-1 promują mielinizację w hodowli oligodendrocytów i neuronów

control IgG 1 mg/ml

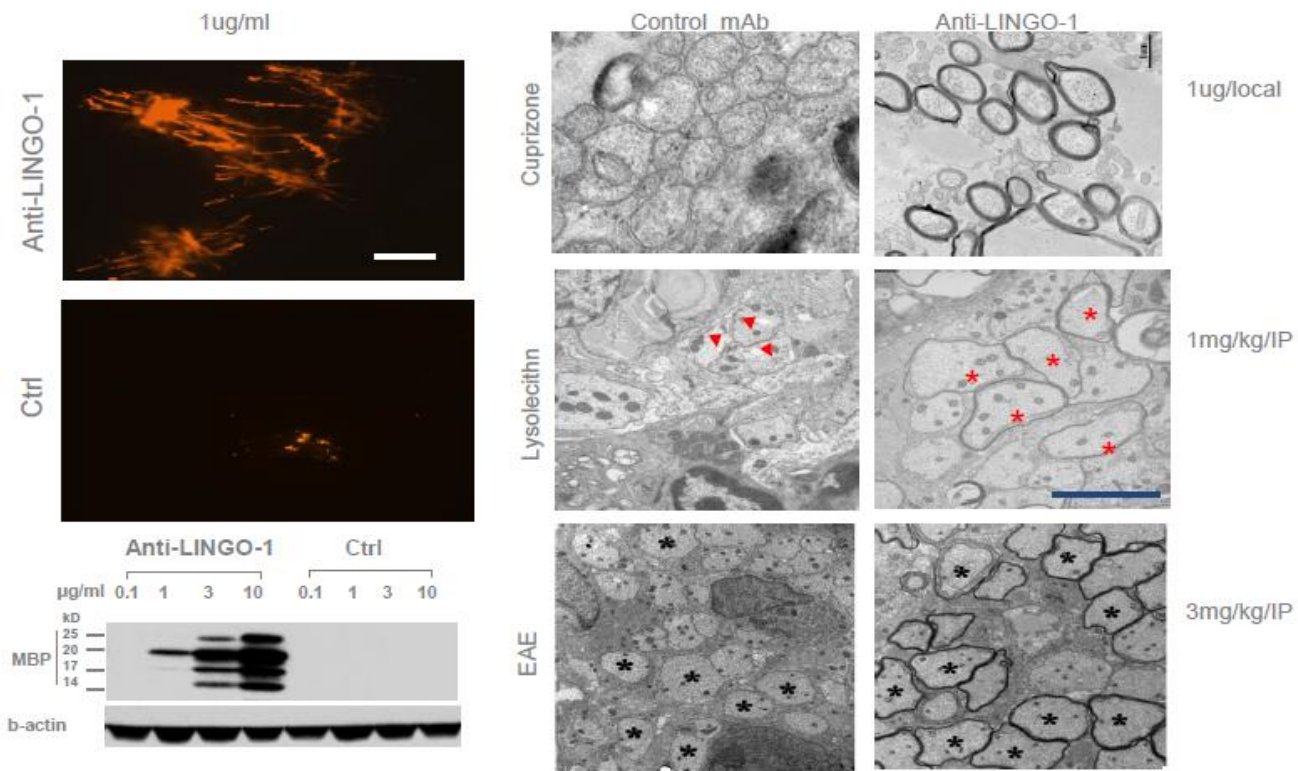


anti-LINGO1 1 mg/ml



LINGO-1

Humanizowane przeciwciała anty-lingo-1 powodują mielinizację *in vitro* i remielinizację *in vivo*



LINGO-1

- Hamuje różnicowanie oligodendrocytów i mielinizację aksonów
 - Wpływa na początek mielinizacji OUN w trakcie rozwoju ontogenetycznego
 - Blokowanie Lingo-1 skutkuje remielinizacją
-

Anty-Lingo

- W styczniu 2010 rozpoczęły się badania kliniczne nad pierwszym lekiem
 - Toksyczność była badana na szczurach i małpach-brak AE, na 72 zdrowych, a potem RRMS i SPMS
 - W październiku 2013 rozpoczęło się badanie II fazy
 - BIIB033 jest IgG1 przeciwciałem monoklonalnym anty-LINGO-1
-

Regeneracja – nowy kierunek terapeutyczny

Fingolimod

Siponimod



Anty-Nogo

Anty-Lingo-1

DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ





Lack of tissue repair in MS lesion

