

Shimriet Zeidler en
Rob Willemsen

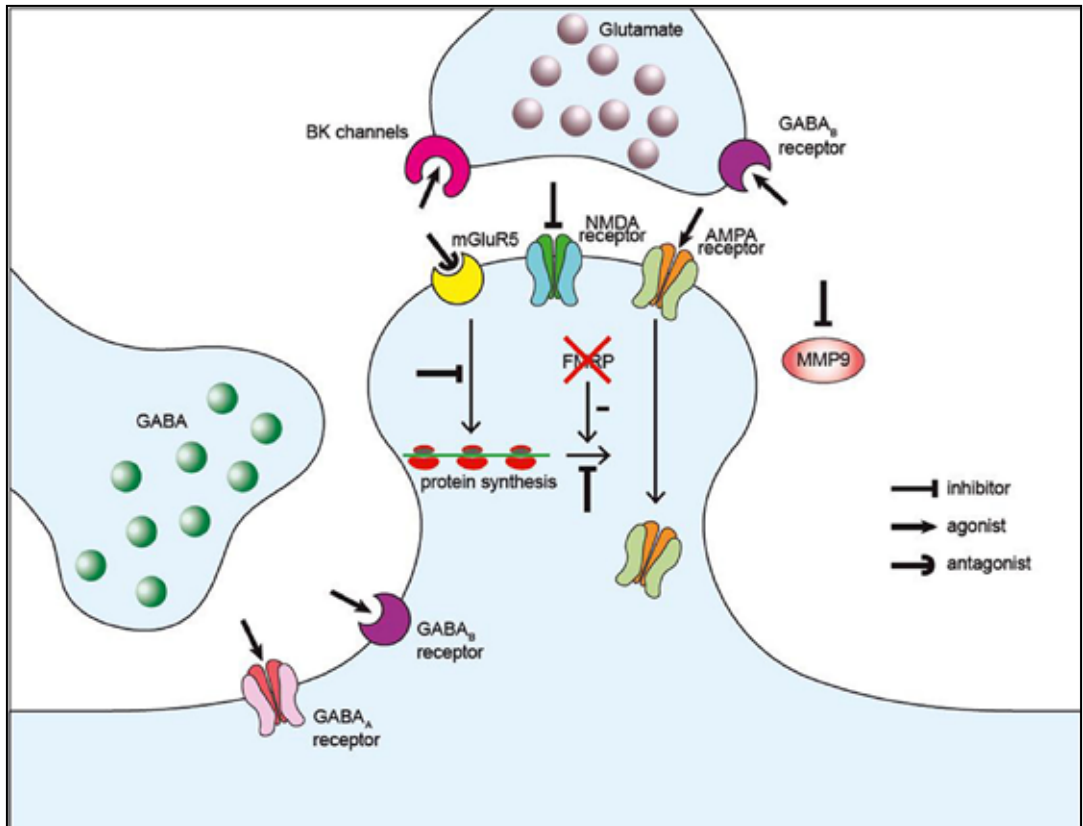
De zoektocht naar medicatie voor het fragilele X syndroom

Klinische Genetica, Erasmus MC, Rotterdam. E-mail: s.zeidler@erasmusmc.nl

Tot een aantal jaren geleden dachten wij dat de meeste erfelijke aandoeningen onbehandelbaar zijn. De ontdekking van de genetische basis van erfelijke aandoeningen en voortschrijdend inzicht in cellulaire processen, bracht mogelijke aangrijpingspunten voor gerichte therapieën aan het licht. De ontwikkeling van een gerichte therapie voor het fragilele X syndroom is een opvallend voorbeeld van hoe kennis van de ziekte een opening biedt voor het ontdekken van een gerichte therapie. Dit artikel is een samenvatting van een publicatie van Zeidler *et al.* (1).

Ingrijpen lijkt mogelijk

Het fragilele X syndroom (FXS) is de frequentste X-gebonden erfelijke oorzaak van verstandelijke beperking en gedragsproblemen. Het FXS wordt veroorzaakt door een erfelijke aanleg (mutatie) in het FMR1 gen. De oorzakelijke mutatie werd in 1991 voor het eerst beschreven door Verkerk *et al.* (2) en kort daarop werd het eerste muismodel ontwikkeld, die de ziekte in mensen nabootst, de Fmr1 knock-out (KO) muis (3). Door het muismodel te bestuderen, werd kennis vergaard van moleculaire processen in de neuronen (zenuwcellen). Verschillende pathways werden geïdentificeerd die van belang zijn in de neuronen, en die verstoord zijn bij FXS, waaronder de mGluR5-pathway en de GABAerge pathway. Kennis van pathways betekende dat er targets werden geïdentificeerd om op in te grijpen, met een mogelijke therapie als uitkomst. Onderzoek bij muizen bevestigde dat gericht ingrijpen in verschillende pathways met medicatie succesvol kon zijn. Vol enthousiasme werden de eerste klinische trials bij mensen gestart. Echter, de bemoedigende resultaten bij muizen konden vrijwel niet worden bevestigd bij mensen. De grotere trials zijn stuk voor stuk beëindigd zonder positief resultaat (zie voor een overzicht clinicaltrials.gov). Wat is er nu misgegaan? Als we dat konden achterhalen, zouden we wellicht nieuwe strategieën kunnen bedenken voor onze zoektocht naar een medicijn. »



Afbeelding 1. Versimpeld plaatje met een model van de synaps en daarin getekend de mogelijke aangrijpingspunten voor therapie voor het fragile X syndroom (uit Zeidler et al.,(1) met dank aan Tom de Vries Lentsch). Afhankelijk van de verstoorde functie kan een inhibitor (een remmer), een agonist (versterkt de activiteit) of een antagonist (verzwakt de activiteit) worden toegediend. Toediening van gerichte medicamenten kan mogelijk als therapie voor fragile X dienen.

Wat is de functie van het fragile X eiwit (FMRP)?

Het FMR1 gen codeert voor het eiwit FMRP. FXS patiënten produceren niet of nauwelijks FMRP. FMRP is betrokken bij belangrijke cellulaire processen in de zenuwcel, die de functie van de synaps reguleren. De synaps is de plek waar neuronen met elkaar kunnen communiceren (afb. 1). De zenuwcellen hebben dit contact nodig om te kunnen functioneren, en om de mens in staat te stellen om te leren, geheugen te vormen en zijn gedrag te reguleren. Onze zenuwcellen zijn continu onderhevig aan veranderingen in en buiten het lichaam, waaraan zij zich moeten aanpassen. De synapsen veranderen als gevolg hiervan; dit proces noemen we synaptische plasticiteit. Synaptische plasticiteit wordt strikt gereguleerd door een complexe balans van verschillende pathways, waaronder de eerdergenoemde mGluR5-pathway en de GABAerge pathway. Door gebrek aan FMRP, is de functie van deze pathways verstoord, waardoor de complexe balans van synaptische plasticiteit afwijkend is (4).

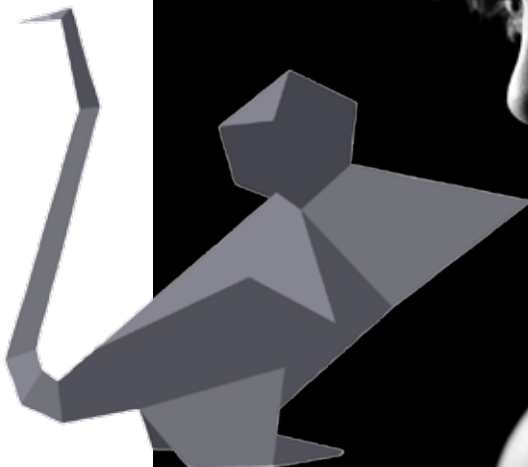
Bij onderzoek naar de functie van FMRP werd gebruik gemaakt van FXS diermodellen, waaronder de Fmr1 KO muis. De Fmr1 KO muis mist een werkend FMRP, net als mensen met het fragile X syndroom. Deze muis vertoont kenmerken die lijken op verschijnselen van het FXS bij mensen, zoals gedragsproblemen, leerproblemen en andere afwijkingen in de functie van het

brein. Onderzoek met de Fmr1 KO muis heeft geholpen bij het ontdekken van betrokken processen in de cel. Ook kan op de muis makkelijker getest worden of medicatie effectief is. Vele publicaties zijn de afgelopen jaren gewijd aan het succesverhaal van medicamenteuze therapie bij muizen. Zo hebben verschillende studies getoond dat aangrijpen op de mGluR5 receptor met de medicamenten AFQ056, Fenobam of CTEP verschillende kenmerken van de Fmr1 KO muis konden corrigeren, waaronder het leervermogen, afwijkend sociaal gedrag, overmatige angst, hyperactiviteit, epilepsie, morfologische afwijkingen van de synaps en synaptische plasticiteit. Aangrijpen op de GABA receptor, bijvoorbeeld met Arbaclofen of Ganaxolone verbeterde eveneens verschillende van deze kenmerken (5). Ditzelfde geldt voor verschillende andere synaptische pathways en moleculen, waaronder MMP9, mTOR, GSK3 en serotonine. De resultaten van het muis-onderzoek waren veelbelovend. Hoe kan het dan dat we deze resultaten niet kunnen bevestigen bij de patiënten? Er zijn verschillende problemen aan te wijzen.

Een muis is geen mens

Allereerst, een muis is geen mens. Ondanks de vele overeenkomsten tussen de muis en de mens, zijn er ook veel verschillen. Daarnaast is onderzoek in muizen niet altijd direct te vertalen naar mensen. Bij muis-studies worden muizen gebruikt zonder genetische en omgevingsvariatie, terwijl mensen met fragile X allemaal anders zijn. Een effect bij muizen is dus misschien niet te vinden bij een groep mensen, omdat ieder mens anders reageert op het medicijn. Ook zijn de resultaten van de muis-studies vaak moeilijk met elkaar te vergelijken en spreken ze elkaar regelmatig tegen. Zo is er voor het middel Arbaclofen gepubliceerd dat deze bij de muis verschillende aspecten van de ziekte verbetert, waaronder een aantal biochemische kenmerken (neuronale eiwitsynthese, AMPA receptor internalisatie, spine morfologie, en gedrag

*Een muis is
geen mens.*



Influenza-Free Ferrets Available at Marshall BioResources



Marshall's history began with the ferret, and we continue to make it our future.



Barrier-bred, specific pathogen free ferrets are raised in the United Kingdom, and in the United States.

Marshall has been raising ferrets since 1939, and we are known as the leading supplier of ferrets worldwide. Our new barrier facilities combined with our decades of experience allow us to provide ferrets with the best health status and temperament for the development of new therapeutics and vaccines.

Don't hesitate to visit our new website at www.marshallbio.com to learn more about everything we can offer.



Visit Us at FELASA
Booth E006



 North America
+1 315 587 2295
info@marshallbio.com

 Continental Europe
+33 (0) 4 72 56 98 60
infoeu@marshallbio.com

 United Kingdom
+44 (0) 1964 527555
infouk@marshallbio.com

 China
+86 10 8492 3662
infoch@marshallbio.com

 Japan
+81 29 875 5870
infojp@marshallbio.com

(5). Een pilot studie bij patiënten met FXS liet eveneens verbetering zien. Echter, de resultaten bij de muis kunnen wij in ons lab niet bevestigen en een grotere klinische trial die volgde, werd vroegtijdig gestaakt wegens gebrek aan verbetering. Elk onderzoeksgroep gebruikt andere technieken en muizenlijnen, waardoor de uitkomsten niet op één hoop kunnen worden gegooid. En vervolgens worden vrijwel alleen de succesverhalen gepubliceerd, de zogenoemde en helaas veel voorkomende publicatie bias. Dit kan een positief effect sterker doen lijken dan deze is, wanneer conclusies op basis van de publicaties worden getrokken. Bovendien, het verbeteren van een kenmerk in de muis, betekent natuurlijk niet automatisch dat de aandoening in zijn geheel verbetert. Dit geldt extra voor biochemische aspecten, zoals het meten van fosforylering van ERK of eiwitsynthese, en voor zogenoemde endofenotypes (kenmerken waarvan onbekend is wat hun klinische consequenties zijn en of het herstellen ervan ook klinisch herstel geeft), zoals bijvoorbeeld de pre-pulse inhibition.

Metten is niet altijd weten

Om vast te stellen of therapie een effect heeft op een patiënt of diermodel, moet er gemeten worden of de verschijnselen verbeteren: de uitkomstmaten. Bij klinische trials moeten goede uitkomstmaten worden geselecteerd. De uitkomstmaten die zijn ontwikkeld bij muizen zijn vaak niet bruikbaar bij mensen. Het is bijvoorbeeld niet mogelijk om in plakjes gesneden hersenen te bekijken om te zien of een medicijn effect heeft gehad op de hersenen van patiënten. Klinische trials gebruiken uitkomstmaten die mogelijk onvoldoende subtiele effecten kunnen meten. Veel uitkomstmaten zijn bijvoorbeeld subjectief (zoals vragenlijsten als de Aberrant Be-

Het placebo-effect.





havior Checklist, Clinical Global Impression en Repetitive Behavior Scale) en daarom gevoelig voor placebo-effect, zodat een echt effect verbloemd kan worden. Er is een grote behoefte aan goede, betrouwbare en robuuste uitkomstmaten bij mensen. Nieuwe onderzoeken moeten gericht zijn op het ontwikkelen van deze uitkomstmaten.

Andere problemen zijn het bepalen van de goede leeftijd waarop we starten met behandeling, de goede dosering en de tijdsduur van behandeling. Wij weten niet zeker hoe vroeg we moeten beginnen met behandelen om een effect te kunnen meten. En het is duidelijk dat de meest ernstige patiënten, die mogelijk het meeste baat hebben bij een behandeling, om praktische redenen niet kunnen meedoen aan een klinische trial; een jongen met verstandelijke beperkingen, ernstige gedragsproblemen en autisme zal niet acht keer op de polikliniek langs kunnen komen, coöperatief deelnemen aan verschillende testen, zich vier keer laten prikken om de veiligheid van het middel te controleren en elke dag een pil innemen. Klinische trials, met name in de beginfase, zijn behoorlijk intensief en helaas voorbehouden aan de milder aangedane patiënten.

Complexe balans

Mogelijk is het belangrijkste probleem dat alle onderzoeken gericht zijn op slechts één onderdeel van het geheel, namelijk één pathway of één target. Plasticiteit in de hersenen is een heel complexe balans. We weten al dat veel pathways en moleculen betrokken zijn bij het FXS. En regelmatig worden nieuwe functies van FMRP ontdekt (4). Het lijkt daarom logisch dat meerdere behandelingen tegelijk nodig zijn om de balans te herstellen. Wellicht zal een cocktail van gerichte medicamenten, een combinatietherapie, uiteindelijk de oplossing zijn.

We geven de moed dus bepaald niet op. Het is vooral belangrijk dat we leren van wat er mis ging, nieuwe wegen uitproberen en dat we blijven nadenken over betere meetmethoden in de onderzoeksopzet. Met deze punten in ons achterhoofd, hopen we in de komende jaren betere resultaten te boeken en uiteindelijk een behandeling voor het fragile X syndroom te kunnen ontwikkelen.

Literatuur

- 1 Zeidler S, Hukema RK, Willemsen R (2015). *The quest for targeted therapy in fragile X syndrome*. Expert Opinion on Therapeutic Targets 19(10):1277-81.
- 2 Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, *et al.* (1991). *Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome*. Cell 65(5):905-914.
- 3 Bakker CE, Verheij C, Willemsen R, *et al.* (1994). *Fmr1 knockout mice: A model to study fragile X mental retardation*. Cell 78:23-33.
- 4 De Esch CE, Zeidler S, Willemsen R (2013). *Translational endpoints in fragile X syndrome*. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 46(2):256-269.
- 5 Braat S, Kooy RF (2014). *Fragile X syndrome neurobiology translates into rational therapy*. Drug Discovery Today 19(4):510-519.

«