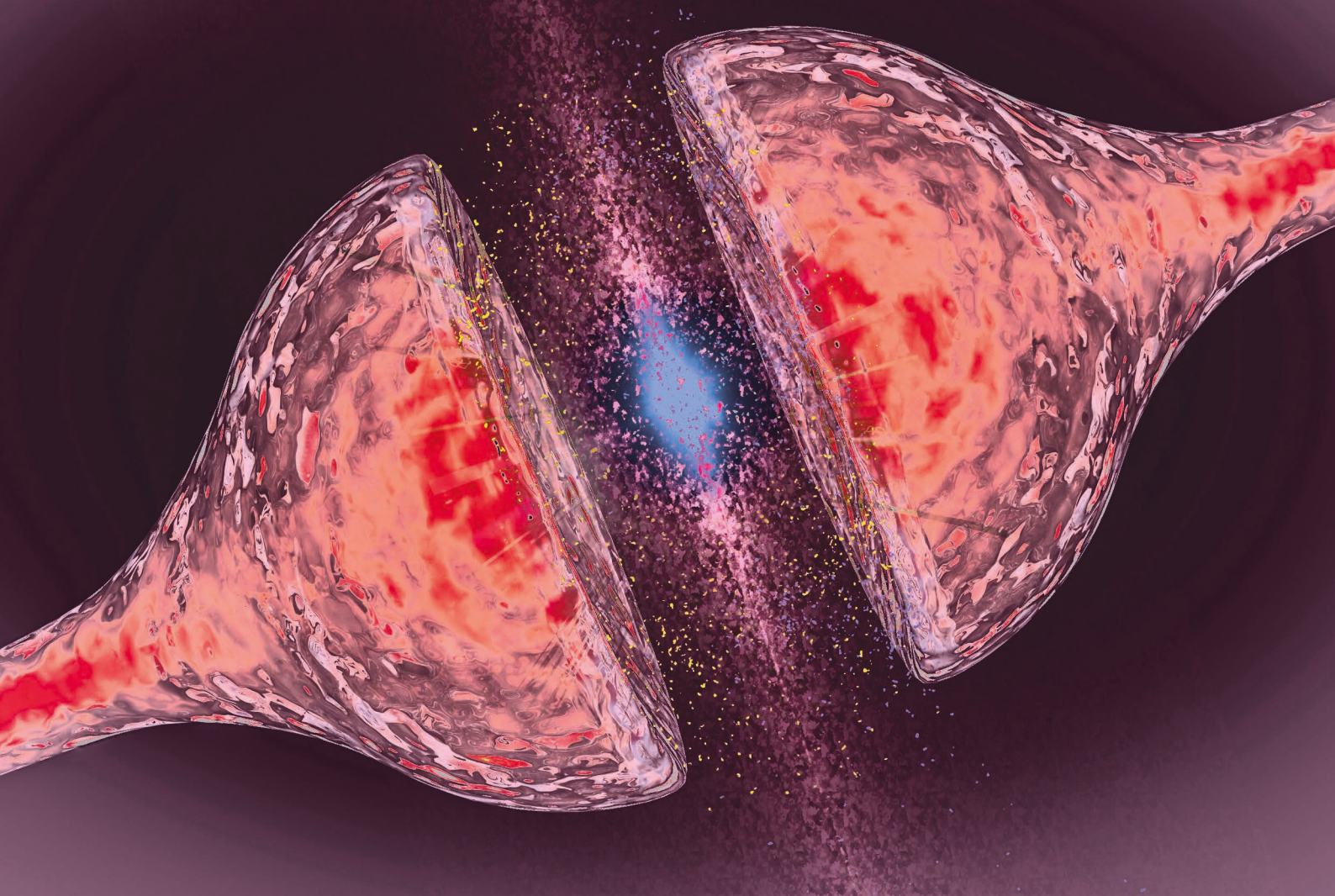




SYNAPTOTAGMIN 13

verkar nervskyddande i ALS

I sjukdomarna amyotrofisk lateral skleros (ALS) och spinal muskelatrofi är det de motoriska nervcellerna (motorneuron) som styr all vår skelettmuskulatur som förloras, vilket leder till en dödlig förlamning. Dock är inte alla motorneuron lika känsliga för de patologiska processerna i dessa allvarliga sjukdomar. De okulomotoriska motorneuronen som styr ögats muskulatur är av okänd anledning mycket motståndskraftiga. Nu har forskare vid Karolinska Institutet och Universitet i Milano i detalj studerat dessa nervceller för att förstå de bakomliggande orsakerna för deras motståndskraft och har sedan använt denna kunskap för att skydda känsliga nervceller. De identifierade en gen, *Synaptotagmin 13* (*SYT13*), med hög aktivitet i okulomotoriska motorneuron, och som kan användas för att skydda känsliga nervceller från nedbrytning. Genterapiexperiment i musmodeller av dessa sjukdomar visade lovande resultat med förlängd livslängd hos djuren. **Eva Hedlund**, docent och forskningsledare, ger här en bakgrund till studien.

MOTORNEURONSJUKDOMAR – DERAS

ÄRFTLIGHET OCH GENTERAPI

Amyotrofisk lateral skleros (ALS) och spinal muskelatrofi (SMA) är dödliga sjukdomar som kännetecknas av en progressiv förlust av nervceller, så kallade motorneuron, vilka styr all skelettmuskulatur i kroppen. När motorneuronen dör förtvinar musklerna och patienterna blir således först försvagade och därefter förlamade.

Det finns i dagsläget inga effektiva terapier för ALS. I cirka 10 procent av alla ALS-fall är sjukdomen tydligt nedärvd och här vet man nu ofta den genetiska orsaken till sjukdomen. Det betyder att man kommer kunna utveckla genterapi där man i de flesta fall försöker att slå ner den sjukdomsorsakande genen. Men i 90 procent av fallen är sjukdomen inte tydligt nedärvd och här vet vi oftast inte varför man

Spinal muskelatrofi är en så kallad monogenetisk sjukdom som orsakas av mutationer i en enda gen, den så kallade survival motor neuron 1 (SMN1) genen. Här godkändes nyligen nya behandlingar som är riktade just mot SMN1 och vilka har gett mycket lovande resultat.¹ Dock varierar de gynnsamma effekterna beroende på tidpunkt för behandling och sjukdomens svårighetsgrad. Det finns därför ett behov av nya kompletterande behandlingar.

OKULOMOTORISKA MOTORNEURON

ÄR MOTSTÅNDSKRAFTIGA

Även om ALS och spinal muskelatrofi karaktäriseras av att motorneuron förloras och därmed att skelettmuskulaturen förtvinar så är inte alla motorneuron lika känsliga i dessa sjukdomar. De motorneuron som styr ögats muskulatur (och

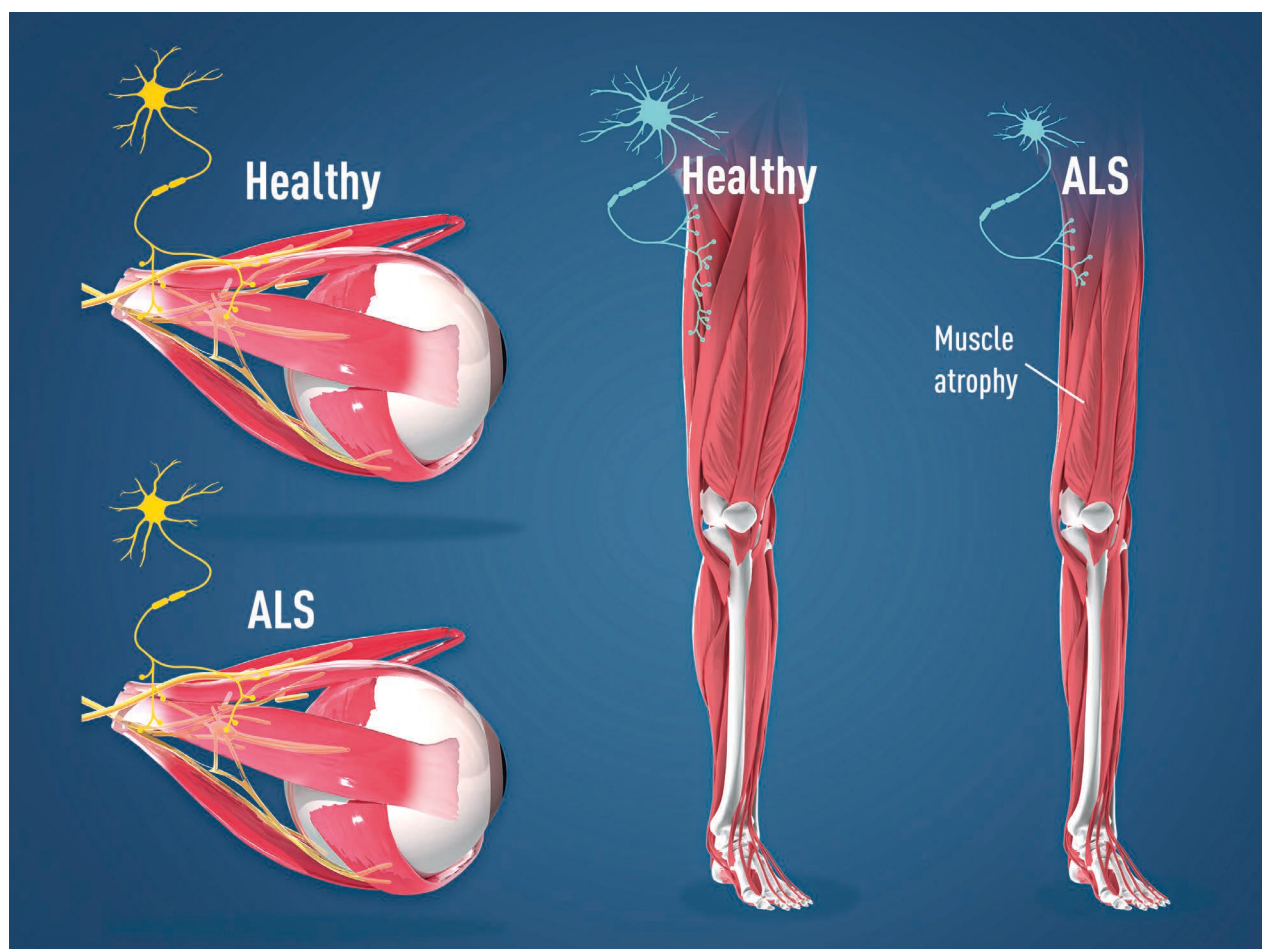
och spinal muskelatrofi



Det innebär att det finns ett mycket stort behov av att hitta behandlingsformer som hjälper ALS-patienter oavsett sjukdomsorsak.

får sjukdomen och det finns inte heller några tydliga genetiska mål. Det innebär att det finns ett mycket stort behov av att hitta behandlingsformer som hjälper ALS-patienter oavsett sjukdomsorsak.

gör att vi kan titta uppåt och nedåt och åt sidorna) är oerhört motståndskraftiga och finns kvar i slutstadiet av sjukdomarna (för en översiktsartikel, se referens 2). Detta används som ett hjälpmedel så att patienter fortfarande kan kommunicera med sin omgivning även då de är helt förlamade och inte längre kan tala.^{3,4} Flera laboratorier runt om i världen försöker att förstå dessa nervcellers motståndskraft för att sedan kunna utnyttja deras egenskaper för att stärka upp känsliga motorneuron. Vårt laboratorium har bland annat visat att okulomotoriska motorneuron har höga nivåer av en tillväxtfaktor kallad IGF-2 (insulin-like growth factor 2) vilken verkar nervskyddande och kan stärka känsliga nervcellers motståndskraft och öka livslängden hos ALS-möss.⁵



SYNAPTOTAGMIN 13 FINNS I HÖGA NIVÅER I MOTSTÅNDSKRAFTIGA MOTORNEURON

I vår studie⁶ började vi med att analysera innehållet av RNA-molekyler i motståndskraftiga och känsliga motorneuron i humant post mortem material genom så kallad RNA-sekvensering. Detta gjorde vi då RNA är budbärarmolekylerna i alla celler som visar vilka gener som är aktiva och därmed cellernas funktion och tillstånd. Vi förväntade oss således att hitta ledtrådar till cellers motståndskraft och känslighet genom denna analys.

I våra sekvenseringsexperiment såg vi att motståndskraftiga okulomotoriska motorneuron isolerade från kontrollvävnad hade högre nivåer av Synaptotagmin 13 (SYT13) mRNA jämfört med känsliga ryggmärgsmotorneuron. SYT13 tillhör en grupp av membranproteiner vilka är involverade i reglering av hur och när neurotransmittorer frisätts och är viktiga för funktionen hos synapser mellan nervceller, och även till exempel mellan motorneuron och muskel. Synapser är mycket känsliga i neurodegenerativa sjukdomar, inklusive ALS och spinal muskelatrofi, och förstörs tidigt under sjukdomsförloppet, vilket gjorde att vi blev mycket intresserade av denna gens möjliga funktion i okulomotoriska motorneuron. Vi undersökte även SYT13-nivåer i motorneuron isolerade från ALS-patientvävnad där endast relativt motståndskraftiga nervceller finns kvar i ryggmärgen, då de känsliga motorneuronen degenererat (försvunnit). Här var nivåerna av

SYT13 mycket högre i alla kvarvarande motorneuron än i kontrollvävnaden vi precis analyserat. Av dessa resultat drog vi slutsatsen att SYT13 kunde vara en möjlig komponent bakom cellers motståndskraft och beslöt oss för att undersöka detta närmare.

SYT13 SKYDDAR KÄNSLIGA MÄNSKLIGA MOTORNEURON FRÅN DEGENERATION

Härnäst ville vi funktionellt testa om SYT13 kunde rädda mänskliga motorneuron från ALS- eller spinal muskelatrofi-liknande degeneration. Vi använde oss av stamcellsderiverade motorneuron som genererats från ALS- och spinal muskelatrofi-patienters hudceller efter omprogrammering. Denna typ av omprogrammering av somatiska celler till så kallade inducerade pluripotenta stamceller^{7,8} har revolutionerat medicinsk forskning då den innebär att man kan studera alla mänskliga celltyper utanför kroppen och förstå sjukdomsmekanismer, och denna teknik belönades 2012 med Nobelpriset i Medicin och Fysiologi.⁹ Vi tillförde höga nivåer av SYT13 i de mänskliga motorneuronen, och såg att vi då kunde rädda både ALS- och spinal muskelatrofi-patientmotorneuron från degeneration under sjukdomslika förhållanden i cellodling. Tillförseln av SYT13 skyddade cellerna mot nedbrytning genom att minska så kallad endoplasmatisk retikulär stress och blockera programmerad celledöd (apoptos). SYT13 hade en skyddande effekt oberoende av den genetiska orsa-

ken till sjukdomarna, vilket är mycket fördelaktigt ur ett terapeutiskt perspektiv eftersom mekanismerna bakom degeneration i princip är okända hos majoriteten av alla ALS-patienter och skulle kunna skilja sig från individ till individ.

GENTERAPI MED SYT13 FÖRLÄNGER LIVSLÄNGDEN HOS ALS- OCH SMA-DJUR

Härefter genomförde vi genterapiexperiment med SYT13 i musmodeller av ALS och spinal muskelatrofi och kunde visa att SMA-mössen levde upp till 50 procent längre och ALS-mössen 14 procent längre. Denna effekt på överlevnad berodde på att SYT13 skyddade känsliga motorneuron från nedbrytning och att synapserna mellan motorneuron och muskel bevarades. Likt de odlade mänskliga nervcellerna, minskade endoplasmatisk retikulär stress och apoptos blockerades i djurens nervceller. Varför SYT13-genterapi gav en relativt större effekt på överlevnad i SMA-djur jämfört med ALS-djur är något vi vill undersöka närmare i framtida forskning.

Våra resultat antyder att SYT13 är en mycket lovande kandidat för framtida genterapi för patienter med motorneuronsjukdom oavsett genetisk orsak.



EVA HEDLUND
Docent, Institutionen för neurovetenskap,
Karolinska Institutet
eva.hedlund@ki.se

REFERENSER

1. Finkel RS, Mercuri E, Darras BT, Connolly AM, Kuntz NL, Kirschner J, Chiriboga CA et al. Nusinersen Versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N Eng J Med* 2017; 377:1723-1732.
2. Nijssen J, Comley LH and Hedlund E. Motor neuron vulnerability and resistance in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathologica* 2017; 133:863-885.
3. Kubota M, Sakakihara Y, Uchiyama Y, Nara A, Nagata T, Nitta H et al. New ocular movement detector system as a communication tool in ventilator-assisted Werdnig-Hoffmann disease. *Dev Med Child Neurol* 2000; 42:61-64.
4. Spataro R, Ciriaco M, Manno C, La Bella V. The eyetracking computer device for communication in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2014; 130:40-45.
5. Allodi I, Comley L, Nichterwitz S, Nizzardo M, Simone C, Aguila Benitez J, Cao M, Corti S and Hedlund E (2016) Differential neuronal vulnerability identifies IGF-2 as a protective factor in ALS. *Scientific Reports* 2016; 6:25960.
6. Nizzardo M, Taiana M, Rizzo F, Aguila Benitez J, Nijssen J, Allodi I, Melzi V, Bresolin N, Comi GP, Hedlund E and Corti S. Synaptotagmin 13 is neuroprotective across motor neuron diseases. *Acta Neuropathol* 2020; 139:837-853.
7. Takahashi K and Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126:663-676.
8. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K and Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131: 861-872.
9. "The Nobel Prize in Physiology or Medicine – 2012 Press Release". Nobel Media AB. October 8, 2012.

Window of OPPORTUNITY

Oralt läkemedel mot MS
2 korta tablettkuror, långvarig effekt.^{1,2}

Verkningsmekanismen medför
ett fönster med möjligheten
för vaccinationer³

MAVENCLAD®
kladribin tabletter



Referens 1. MAVENCLAD® SPC 01/2020

1) MAVENCLAD® ges per oralt under 4–5 dagar och ånyo under 4–5 dagar en månad senare. Proceduren upprepas ånyo efter 1 år. Dosen är viktbaserad.

2) Effekt upp till 4 år vad avser minskad skovfrekvens och förlängd tid till progression av funktionsnedsättning.

3) **Avdödat vaccin** kan ges under behandlingsåren. Vid vaccination bör antalet B-celler vara > 200/μl och CD4+ T-celler > 200/μl (kontrolleras med flödescytometri). Det sker engångsdos, beroende på kroppsvikt. **Kontraindikationer:** Överkänslighet mot den aktiva substansen eller mot något hjälpämne. HIV. Aktiv kronisk infektion (tuberkulos eller hepatit). Aktiv malignitet. Insättning av behandling med kladribin hos patienter med försvagat immunförsvar, inklusive patienter som står på immunsuppressiv eller myelosuppressiv behandling. Måttligt eller gravt nedsatt njurfunktion. Graviditet eller amning. Fall av PML har rapporterats vid behandling med parenteralt kladribin mot härcellsleukemi. I den kliniska studiedatabasen (1976 patienter, 8,560 patientår) för MAVENCLAD® har inga fall av PML rapporterats. En undersökning med magnetisk resonanstomografi (MRI) bör emellertid göras innan behandling med MAVENCLAD® påbörjas (vanligen inom tre månader).

MAVENCLAD® (kladribin), Rx, F, ATC-kod L04AA40, är en 10 mg tablett för peroral behandling. **Indikation:** Behandling av vuxna patienter med högaktiv skovvis multipel skleros (MS) som definieras av kliniska eller bildiagnostiska fynd. **Dosering:** Rekommenderad kumulativ dos av MAVENCLAD® är 3,5 mg/kg kroppsvikt under 2 år, administrerat som en behandlingskur på 1,75 mg/kg per år. Varje behandlingskur består av två behandlingsveckor, en i början av den första månaden och en i början av den andra månaden för respektive behandlingsår. Varje behandlingsvecka består av 4 eller 5 dagar under vilka en patient får 10 mg eller 20 mg (en eller två tabletter) som en daglig engångsdos, beroende på kroppsvikt. **Kontraindikationer:** Överkänslighet mot den aktiva substansen eller mot något hjälpämne. HIV. Aktiv kronisk infektion (tuberkulos eller hepatit). Aktiv malignitet. Insättning av behandling med kladribin hos patienter med försvagat immunförsvar, inklusive patienter som står på immunsuppressiv eller myelosuppressiv behandling. Måttligt eller gravt nedsatt njurfunktion. Graviditet eller amning. Fall av PML har rapporterats vid behandling med parenteralt kladribin mot härcellsleukemi. I den kliniska studiedatabasen (1976 patienter, 8,560 patientår) för MAVENCLAD® har inga fall av PML rapporterats. En undersökning med magnetisk resonanstomografi (MRI) bör emellertid göras innan behandling med MAVENCLAD® påbörjas (vanligen inom tre månader).

För ytterligare information se www.fass.se. Datum för översyn av produktresumén 01/2020.

Merck AB, Box 3033, 169 03 Solna | Tel. 08-562 445 00 | www.merck.se

MERCK