



Próby leczenia farmakologicznego stwardnienia bocznego zanikowego (SLA)

Trials of pharmacological treatment of amyotrophic lateral sclerosis (ALS)

JOANNA IŁŻECKA, ZBIGNIEW STELMASIAK

Z Katedry i Kliniki Neurologii Akademii Medycznej w Lublinie

STRESZCZENIE. Stwardnienie boczne zanikowe (SLA) jest chorobą neurodegeneracyjną, w której występuje uszkodzenie górnego i dolnego motoneuronu. Etiopatogeneza schorzenia jest prawdopodobnie wieloczynnikowa, ale wciąż niewyjaśniona. Uwzględnia się rolę uszkodzenia oksydacyjnego, nadmiernej toksyczności glutaminianu, niedoboru czynników troficznych, rolę czynników genetycznych, środowiskowych i autoimmunologicznych. Leczenie powinno mieć charakter skojarzony i wpływać na różne potencjalne mechanizmy neurodegeneracji, z uwzględnieniem m.in. leków hamujących nadmierną aktywność kwasu glutaminowego, usuwających wolne rodniki, czynników neurotroficznych i terapii genowej.

SUMMARY. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease involving damage to the upper and lower motoneurons. The etiopathogenesis of the disease is probably associated with many factors, but still unclear. Such variables as oxidative damage, glutamate toxicity, trophic factors deficit, genetic, environmental and autoimmune factors are taken into consideration. The treatment should be combined so as to affect various potential neurodegeneration mechanisms. Medicines inhibiting glutamate hyperactivity and drugs eliminating free radicals should be administered together with the application of neurotrophic factors and gene therapy.

Słowa kluczowe: stwardnienie boczne zanikowe / leczenie

Key words: amyotrophic lateral sclerosis / treatment

Stwardnienie boczne zanikowe (SLA) jest postępującą chorobą neurodegeneracyjną związaną z uszkodzeniem motoneuronów, o niewyjaśnionej dotychczas etiopatogenezie i bez skutecznego leczenia [19].

W etiopatogenezie schorzenia uwzględnia się m.in.: wpływ infekcji wirusowych (np. wirus polio), toksyczności metali ciężkich, toksyn (np. β -N-methylamino-L-alanina), czynników genetycznych (mutacje enzymatyczne dysmutazy nadtlenkowej-1 [SOD-1] w rodzinnej postaci SLA), mechanizmów autoimmunologicznych, „ekscytotoksyczności” aminokwasów pobudzających, stresu oksydacyjnego i wolnych rodników, niedoboru czynników neurotroficznych, nieprawidłowości neurofila-

mentów [6, 21, 23, 30]. Wg Show i Ince wspólną drogą końcową dla procesu neurodegeneracji w SLA są: wzmożona aktywacja receptorów kwasu glutaminowego, wewnątrzkomórkowy wzrost stężenia wolnych jonów wapniowych, wzrost produkcji wolnych rodników, aktywacja procesu apoptozy, obniżenie czynników neurotroficznych [34]. Hipotezy „ekscytotoksyczności” kwasu glutaminowego, genetyczna, stresu oksydacyjnego oraz niedoboru czynników neurotroficznych stanowią obecnie podstawę prób leczniczych SLA [20].

Kwas glutaminowy należy do mózgowych neuroprzebieżników pobudzających. Nadmierne uwalnianie kwasu glutaminowego powoduje wzmożoną aktywację receptorów NMDA,

AMPA, kwasu kainowego, a przedłużająca się depolaryzacja neuronów prowadzi do lizy i śmierci komórek [34]. Nieprawidłowy metabolizm kwasu glutaminowego u chorych z SLA opisał Plaitakis i kierując się hipotezą defektu dehydrogenazy kwasu glutaminowego przeprowadził pilotażową próbę leczenia aminokwasami rozgałęzionymi. Jednakże próba ta oraz następne okazały się nieskuteczne, a nawet obserwowano wzrost śmiertelności w jednym z badań klinicznych [14, 32, 33]. Niepomyślnie były również próby leczenia antagonistą receptora NMDA – dextrometorfanem [30].

Riluzole [2-amino-6 (trifluoromethoxy) benzothiazole, RP 54274] wykazuje aktywność „antyekscytotoksyczną” poprzez hamowanie uwalniania glutaminianu z zakończeń nerwowych, hamowanie synaptycznej transmisji glicyny, blokowanie receptorów dla aminokwasów pobudzających, inaktywację kanałów sodowych na zakończeniach nerwowych, stymulację drogi przewodnictwa sygnału wewnątrzkomórkowego zależnej od białka G [6, 31]. Dwie duże kliniczne próby z kontrolą placebo wypadły pozytywnie. W pierwszym badaniu klinicznym podawano riluzole w dawce 100 mg/die kontra z placebo u 155 chorych z SLA. Uzyskano statystycznie istotne zmniejszenie śmiertelności o 38,6% po 12 miesiącach i o 19,4% po 21 miesiącach leczenia. Efekt leczenia był lepszy u chorych z opuszkowym początkiem choroby. Druga duża podwójnie ślepa próba z kontrolą placebo objęła 959 chorych, którym podawano riluzole w dawce 50, 100 lub 200 mg/die przez okres 18 miesięcy. Badanie to potwierdziło wydłużenie czasu przeżycia chorych z SLA. U pacjentów przyjmujących riluzole w dawce 50, 100 i 200 mg/die ryzyko tracheostomii lub śmierci było zredukowane odpowiednio do 24%, 34% i 31% po 12 miesiącach leczenia. Jednakże różnica ta była statystycznie istotna tylko przy dawce 100 i 200 mg/die. Po 18 miesiącach leczenia czas przeżycia chorych z SLA w porównaniu z placebo był dłuższy i wynosił dla dawek 50, 100 i 200 mg/die odpowiednio – 24%,

35% i 39%, co odpowiadało wydłużeniu czasu przeżycia średnio o około 2–3 miesiące. W próbie tej nie obserwowano jednak istotnego wpływu tego leczenia na poprawę wskaźników klinicznych (osłabienie mięśni, objawy opuszkowe) [4, 6, 31].

Próby kliniczne zastosowania lamotryginy – inhibitora uwalniania kwasu glutaminowego – nie wykazały pozytywnego efektu [13, 30].

Gabapentyna (GABA) hamuje aminotransferazę aminokwasów rozgałęzionych i powstawanie kwasu glutaminowego z leucyny, izoleucyny i waliny [36]. W badaniach doświadczalnych przedłużała okres przeżycia myszy transgenicznych SOD-1. W przeprowadzonej próbie klinicznej obserwowano tendencję do hamowania postępu choroby, jednakże w porównaniu z grupą przyjmującą placebo różnica nie była istotna [30, 31].

Prowadzone są próby kliniczne antagonisty receptora NMDA – Eliprodilu [19].

Badania doświadczalne wykazują, że antagoniści receptorów AMPA i kwasu kainowego mogą znaleźć potencjalne zastosowanie w leczeniu chorych z SLA [30]. W badaniu na modelu doświadczalnym wykazano zmniejszenie neurotoksyczności hodowli komórek płynu mózgowo-rdzeniowego pod wpływem antagonistów innych receptorów niż NMDA, związków takich jak 6-cyano-7-nitroquinoline-2,3-dione (CNQX) i α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate – antagonistów receptora AMPA i kwasu kainowego [8, 19].

Sugerowano, że SLA rozwija się na podłożu autoimmunologicznym. Potwierdzeniem tej hipotezy miał być autoimmunologiczny eksperymentalny model zwierzęcy SLA, wykrycie aktywowanych limfocytów T i depozytów immunoglobulin w istocie szarej rdzenia kręgowego u chorych z SLA, wykazanie obecności przeciwciał skierowanych przeciwko kanałom wapniowym u chorych, wykazanie, że przeciwciała zaburzające funkcję kanałów wapniowych uszkadzają motoneurony u myszy transgenicznych. Podstawą drugiej hipotezy autoimmunologicznej było stwierdzenie większej częstotliwości występowania

u chorych z SLA monoklonalnej paraproteinemii, chorób limfoproliferacyjnych i przeciwciał skierowanych do gangliozydów GM1 [23]. Jednakże próby immunosupresji cyklosporyną, cyklofosfamidem, metotreksatem, azatiopryną, kortykosterydami, leczenia plazmaferezą i naświetlaniem ciała nie wykazały pozytywnego efektu [14, 23, 30].

Mutacje genetyczne dysmutazy nadtlenukwej-1 (SOD-1) występują u 10–20% chorych z rodzinną postacią SLA [FALS]. W związku z udziałem SOD-1 w usuwaniu anionów nadtlenukowych sugeruje się, że zespół FALS może powstawać w wyniku toksycznego działania wolnych rodników [10, 18]. Jednakże próby zastosowania rekombinowanego enzymu SOD-1 u chorych z FALS zakończyły się niepowodzeniem [9]. Wolne rodniki powstają także w procesie „ekscytotoksyczności” kwasu glutaminowego [19]. Wykazano, że N-acetyl-L-cysteina hamująca uszkodzenie motoneuronów przez wolne rodniki istotnie opóźniała początek choroby i przedłużała przeżycie myszy transgenicznyc z mutacją G93A SOD-1 [2]. W przeprowadzonej próbie klinicznej hamowała postęp choroby i wydłużała okres przeżycia, ale efekt ten nie był istotny [30]. Również próby kliniczne zastosowania selegiliny i witaminy E oraz łącznie selegiliny z witaminą E nie dały pozytywnych rezultatów [14, 22, 27, 28]. Abe i wsp. w badaniach na modelu doświadczalnym SLA wykazali neuroprotektoryjne działanie na komórki ruchowe rdzenia kręgowego nowego związku antyoksydacyjnego OPC-14117 hamującego peroksydację lipidów. Związek ten zmniejszał objawy kliniczne i wydłużał czas przeżycia [1].

Leki działające antagonistycznie w stosunku do kanałów wapniowych nie wpływają w sposób istotny na stan kliniczny i czas przeżycia chorych z SLA [14]. Nie stwierdzono również pozytywnego efektu leczenia SLA bromokryptyną [35].

Neurotrofiny kontrolują wzrost i funkcję neuronów wpływając hamująco na proces apoptozy [23, 31]. Insulinowy czynnik wzrostu – I (IGF-I) jest polipeptydem regulującym

aktywność hormonu wzrostu o działaniu podobnym do insuliny. Receptory dla IGF-I znajdują się na neuronach ruchowych, mięśniach i w ośrodkowym układzie nerwowym. IGF-I przedłuża życie motoneuronów oraz powoduje ich regenerację na zwierzęcym modelu SLA [29]. Rekombinowany czynnik IGF-I (rh IGF-I) oceniany w próbach klinicznych, nie wpływał istotnie na stan kliniczny i czas przeżycia chorych [14, 31]. Badania doświadczalne mózgowego czynnika neurotroficznego (BDNF) wykazały jego korzystny wpływ na przeżycie motoneuronów [31]. W przeprowadzonej dużej próbie klinicznej podawano rekombinowany ludzki BDNF (rmetHu BDNF) w dawce 10–300 µg/kg/die podskórnie przez okres 6 miesięcy, uzyskując nieistotne spowolnienie procesu postępującego osłabienia funkcji mięśni oddechowych oraz wydłużenie czasu przeżycia chorych [3]. Badania doświadczalne wykazały, że rzęskowy czynnik neurotroficzny (CNTF) może przedłużać przeżycie motoneuronów rdzenia kręgowego. Badania kliniczne nie potwierdziły tego faktu, natomiast ujawniły wiele działań ubocznych CNTF określanych jako zespół cytokinowy [14, 24]. Badania doświadczalne dotyczące glejowego czynnika neurotroficznego (GDNF) są bardzo obiecujące. Duże nadzieje wiąże się również z neurotrofiną 3 (NT 3), neurotrofiną 4 (NT 4), kardiotropiną – I (CT-I) oraz aksokiną [14, 19, 30, 31]. Pozytywne są również wstępne wyniki badań doświadczalnych nad niepeptydowym związkiem SR 57746 A o właściwościach neurotroficznyc, istotnie hamującym neurodegenerację u myszy transgenicznyc [12, 30]. W badaniach przedklinicznych SLA wykazano również neuroprotektoryjny wpływ na przewodnictwo cholinergiczne białaczkowego czynnika hamującego [20]. Obecnie prowadzone są badania kliniczne nad rekombinowanym białaczkowym czynnikiem hamującym AM 424 [26].

W procesie apoptozy istotną rolę odgrywa ją *proteazy*: cysteinowa (kaspaza-1), serynowa (granzyme B) i trombina [14, 25]. Wykazano, że hamowanie kaspazy-1 zwalnia przebieg

choroby u myszy transgenicznych [17]. PNI jest jednym z inhibitorów proteazy serynowej, należy do podgrupy serpin, zlokalizowany jest na synapsach neuromięśniowych [15]. W badaniach doświadczalnych wykazano, że PNI hamuje śmierć neuronów indukowaną urazem [14]. Konwersja angiotensyny-1 do angiotensyny-2 odbywa się przy pomocy enzymu konwertującego (ACE). Obecność tego układu w mózgu może mieć istotne znaczenie w etiopatogenezie oraz podejmowaniu prób leczenia SLA [7]. Badania wykazują, że angiotensyna-2 może hamować ekspresję PNI na komórkach glejowych. Istnieje więc potencjalna możliwość zastosowania inhibitorów ACE w terapii SLA [5]. Przedkliniczne próby leczenia przy pomocy białka antyapoptotycznego bcl-2 są pozytywne [19].

Modyfikacja struktury neurofilamentów u chorych z SLA powoduje zaburzenia transportu aksoplazmatycznego. U chorych wykryto mutacje uszkadzające C-końcowy region ciężkiej podjednostki neurofilamentu [16]. Badania doświadczalne wykazały także uszkodzenie struktury neurofilamentów (fragmentację, hiperfosforylację) w wyniku wzmożonej aktywności kinazy proteinowej C uwalnianej w nadmiarze w warunkach stresu tlenowego oraz „ekscytotoksyczności” glutaminianu [11].

Terapia genowa może budzić nadzieje części chorych z SLA. Dotyczy ona genu SOD-1 w rodzinnej postaci SLA i genu kodującego neurofilamenty u niektórych chorych ze sporadycznym SLA [19]. Istnieje również potencjalna możliwość przenoszenia genów kodujących czynniki neuroprotektcyjne takie jak neurotrofiny. Geny mogą być przenoszone do ośrodkowego układu nerwowego przy zastosowaniu retrowirusów, herpeswirusów, adenowirusów lub plazmatycznych kompleksów lipidowych [37].

Etiopatogeneza SLA pozostaje nadal niewyjaśniona. Jest prawdopodobnie wieloczynnikowa. Przyjmując nawet, że pojedynczy czynnik odpowiedzialny jest za postępujący proces śmierci komórek należy pamiętać, że uruchamia on całą kaskadę innych procesów (np. aktywację receptorów kwasu glutamino-

wego, generację wolnych rodników, wzrost stężenia wapnia, aktywację enzymów) nieuchronnie prowadzących do uszkodzenia motoneuronów. Konieczna jest zatem terapia skojarzona, wpływająca na różne potencjalne mechanizmy neurodegeneracji.

PIŚMIENNICTWO

1. Abe K, Morita S, Kikuchi T, Itoyama Y: Protective effect of a novel free radical scavenger, OPC-14117, on wobbler mouse motor neuron disease. *J. Neurosci. Res.* 1997, 48, 1, 63–70.
2. Andreassen A, Dedeoglu A, Klivenyi P, Beal MF, Bush AI: N-acetyl-L-cysteine improves survival and preserves motor performance in an animal model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroreport* 2000, 11, 11, 2491–2493.
3. BDNF Study Group. Subcutaneous administration of recombinant human methionyl – brain – derived neurotrophic factor (r-meth-hu BDNF) in amyotrophic lateral sclerosis. *Abstract. Ann. Neurol.* 1995, 38, 971.
4. Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V: A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 1994, 330, 9, 585–591.
5. Bleuel A, De Gasparo M, Whitebread S, Puttner J, Monard D: Regulation of protease nexin-1 expression in cultured Schwann cells is mediated by angiotensin II receptors. *J. Neurosci.* 1995, 15, 750–761.
6. Bryson HM, Fulton B, Benfield P: Riluzole. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in amyotrophic lateral sclerosis. *Drugs* 1996, 52, 4, 549–563.
7. Bunnemann B, Fuxe K, Ganten D: The brain renin-angiotensin system: localization and general significance. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992, 19, 51–62.
8. Couratier P, Hugon J, Sindon P, Vallat JM: Cell culture evidence for neural degeneration in amyotrophic lateral sclerosis being linked to glutamate AMPA/kainate receptors. *Lancet* 1993, 341, 265–268.
9. Cudkowicz ME, Warren L, Francis JW, Lloyd KJ, Friedlander R, Kassem N, Munsat TL, Brown RH: Intrathecal administration of recombinant human superoxide dismutase 1 in amyotrophic lateral sclerosis: a preliminary and pharmacokinetic study. *Neurology* 1997, 49, 1, 213–222.
10. Deng HX, Hentati A, Tainer JA, Iqbal Z, Cayabyaba A, Hung WY, Getzoff ED, Hu P, Herzfeld B, Roos RP: Amyotrophic lateral sclerosis

- and structural defects in Cu, Zn, superoxide dismutase. *Science* 1993, 261, 1047–1051.
11. Doroudchi MM, Durham HD: Activation of protein kinase C induces neurofilament fragmentation, hyperphosphorylation of perikaryal neurofilaments and proximal dendritic swellings in cultured motor neurons. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1996, 55, 2, 246–256.
 12. Duong F, Fournier J, Keane PE, Guenet JL, Soubrie P, Warter JM, Poindron P: The effect of the nonpeptide neurotrophic compound SR 57746A on the progression of the disease state of the pmn mouse. *Br. J. Pharmacol.* 1998, 124, 4, 811–817.
 13. Eisen A, Stewart H, Schulzer M, Cameron D: Anti-glutamate therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a trial using lamotrigine. *Can. J. Neurol. Sci.* 1993, 20, 297–301.
 14. Festoff BW: Amyotrophic lateral sclerosis: current and future treatment strategies. *Drugs* 1996, 51, 1, 28–44.
 15. Festoff BW, Rao JS, Hantai D: Plasminogen activators and inhibitors in neuromuscular system: III. The serpin protease, nexin I is synthesized by muscle and localized at neuromuscular synapses. *J. Cell. Physiol.* 1991, 147, 76–86.
 16. Figlewicz DA, Krizus A, Martinoli MG, Meininger V, Dib M, Rouleau GA, Julien JP: Variants of the heavy neurofilament subunit are associated with the development of amyotrophic lateral sclerosis. *Hum. Mol. Genet.* 1994, 3, 1757–1761.
 17. Friedlander RM, Brown RH, Gagliardini V, Wang J, Yuan J: Inhibition of ICE slows ALS in mice. *Nature* 1997, 388(6637), 31.
 18. Gurney ME, Cutting FB, Zhai P, Doble A, Taylor CP, Andus PK, Hall ED: Benefit of vitamin E, riluzole, and gabapentin in transgenic model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* 1996, 39, 147–157.
 19. Hugon J: ALS therapy: targets for the future. *Neurology* 1996, 47, suppl. 4, 251–254.
 20. Ikeda K, Iwasaki Y, Tagaya N, Shiojima T, Kinoshita M: Neuroprotective effect of cholinergic differentiation factor/leukemia inhibitory factor on wobblers murine motor neuron disease. *Muscle. Nerve.* 1995, 18, 11, 1344–1347.
 21. Iwanowski L: Stwardnienie zanikowe boczne (SLA). *Neurol. Neurochir. Pol.* 1999, 33, 2, 445–450.
 22. Janik P, Kwieciński H, Jamrozik Z, Opuchlik A: Antioxidant drugs do not prolong survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Abstract. J. Neurol.* 1998, 245, 347.
 23. Jerusalem F, Pohl C, Kartizky J, Ries F: ALS. *Neurology* 1996, 47, suppl. 4, 218–220.
 24. Jeyarajah DR, Thistlethwaite JR: General aspects of cytokine – release syndrome: timing and incidence of symptoms. *Transplant. Proc.* 1993, 25, suppl. 1, 16–20.
 25. Kumar S: ICE – like proteases in apoptosis. *Trends. Biochem. Sci.* 1995, 20, 198–202.
 26. Kurek JB, Radford AJ, Crump DE, Bower JJ, Feeney SJ, Austin L: LIF (AM424), a promising growth factor for the treatment of ALS. *J. Neurol. Sci.* 1998, 160, suppl. 1, 106–113.
 27. Kwieciński H, Janik P, Opuchlik A: Leczenie stwardnienia bocznego zanikowego (SLA). *Terapia* 1998, 1, 56, 1–5.
 28. Lange DJ, Murphy PL, Diamond B, Appel V, Lai EC, Younger DS, Appel SH: Selegiline is ineffective in a collaborative double-blind, placebo-controlled trial for treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Arch. Neurol.* 1998, 55, 1, 93–96.
 29. Lewis ME, Neff NT, Contreras PC, Stong DB, Oppenheim RW, Grebow PE, Vaught JL: Insulin – like growth factor-I: potential for treatment of motor neuronal disorders. *Exp. Neurol.* 1993, 124, 73–88.
 30. Louvel E, Hugon J, Doble A: Therapeutic advances in amyotrophic lateral sclerosis. *Trends. Pharmacol. Sci.* 1997, 18, 196–203.
 31. Miller RG: New approaches to therapy of amyotrophic lateral sclerosis. *West. J. Med.* 1998, 168, 1, 262–263.
 32. Plaitakis A: Glutamate dysfunction and selective motor neuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis: a hypothesis. *Ann. Neurol.* 1990, 28, 1, 3–8.
 33. Plaitakis A, Smith J, Mandeli J, Yahr MD: A pilot trial of branched chain amino acid treatment in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 1988, 1, 1015–1018.
 34. Shaw PJ, Ince PG: Glutamate, excitotoxicity and amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurol.* 1997, 244, suppl. 2, 3–14.
 35. Szulc-Kuberska J, Klimek A, Stępień H, Woszczak M: Próba leczenia stwardnienia zanikowego bocznego bromokryptyną. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1990, 24, 37–41.
 36. Welty DF, Schielke GP, Rothstein JD: Potential treatment of amyotrophic lateral sclerosis with gabapentin: a hypothesis. *Ann. Pharmacother.* 1995, 29, 11, 1164–1167.
 37. Wolff JA: Postnatal gene transfer into the central nervous system. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1993, 3, 743–8.