

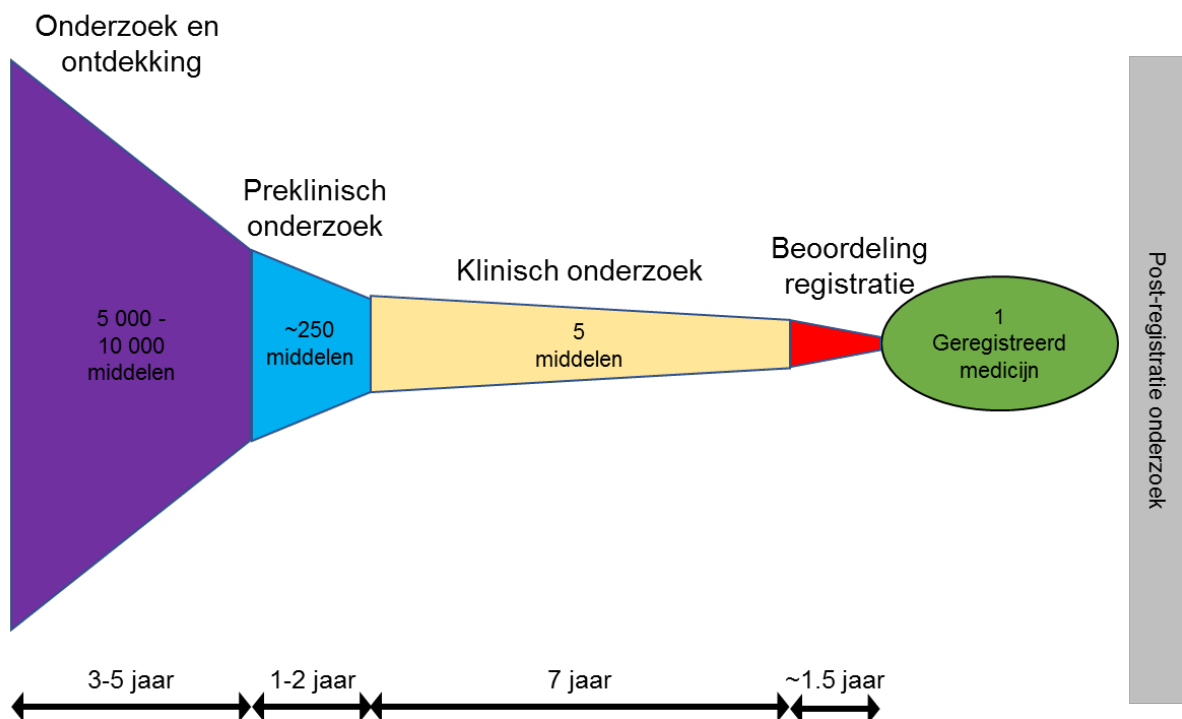


Ontwikkeling geneesmiddelen

Voordat een potentieel geneesmiddel in klinische studies met patiënten getest wordt, wordt het uitgebreid getest in modelsystemen. Dit kan jaren duren en slechts een paar kandidaten worden uiteindelijk getest in klinische studies. De meeste middelen laten geen positieve effecten zien in modelsystemen of blijken onveilig te zijn en hun ontwikkeling wordt stopgezet.

Het is erg belangrijk dat kandidaatgeneesmiddelen grondig getest worden voordat een klinische studie gestart wordt. Dit wordt allereerst gedaan om te beoordelen of het middel op de verwachte manier werkt (proof-of-concept). Als dit het geval is, zijn aanvullende testen nodig om ervoor te zorgen dat klinische studies optimaal opgezet kunnen worden.

Tijdslijn ontwikkeling geneesmiddelen



Ontwikkelingsfasen

De ontwikkeling van een therapie bestaat uit fasen. Na ontdekking worden kandidaatmedicijnen eerst getest in celmodellen, daarna in diermodellen en uiteindelijk bij mensen in klinische onderzoeken. Cel- en diermodellen zijn erg belangrijk om proof-of-concept te tonen (d.w.z. werkt het in een modelsysteem?). Benadrukt moet worden dat succes in een vroeg stadium geen garantie is voor succes in volgende stappen. De volgende stappen zijn altijd ingewikkelder. Dus het feit dat 'het werkt' in een petrischaaltje gekweekte patiëntencellen (2D), betekent niet dat de aanpak ook effectief en veilig zal zijn in een diermodel. Evenzo betekent het feit dat iets in een diermodel veilig en effectief is, niet dat het bij patiënten klinisch-relevante gunstige effecten zal hebben.

Identificatie kandidaatgeneesmiddelen

Het begint allemaal met de ontdekking van een chemische stof die een mogelijk geneesmiddel zou kunnen zijn. Dit kan op verschillende manieren. In het verleden werden medicijnen vaak ontdekt door een actief ingrediënt (chemische stof) te isoleren uit een traditioneel geneesmiddel (bijvoorbeeld kruiden) of gewoon door toeval (het antibioticum penicilline is een goed voorbeeld). Tegenwoordig worden vaak meer geavanceerde methoden gebruikt, zoals het geautomatiseerd screenen van duizenden chemische verbindingen. De bij de ziekte in het lichaam optredende veranderingen op moleculair niveau (veranderingen in signaalroutes, de aanwezige niveaus van bepaalde stoffen etc.) worden onderzocht en tal van moleculen die deze routes/stoffen kunnen beïnvloeden, worden gescreend. Degenen die mogelijke gunstige effecten vertonen, worden geselecteerd voor verder onderzoek.

Een andere manier waar steeds meer belangstelling voor is, is het herbestemmen van bestaande medicijnen, die al worden gebruikt voor de behandeling van andere ziekten. Door de routes die bij de ziekte betrokken zijn, te onderzoeken, worden geneesmiddelen die deze routes beïnvloeden, geselecteerd als potentieel therapeutisch. Het voordeel hiervan is dat er al veel kennis is over de stof, zoals stofwisseling, optimale dosering en veiligheid. Soms zijn deze medicijnen al goedgekeurd voor andere ziekten.

Na het selecteren van potentiële stoffen, worden hun farmaceutische eigenschappen verder onderzocht om informatie te verzamelen over Absorptie (hoe wordt het geneesmiddel geabsorbeerd om het beoogde weefsel te bereiken, meestal via de bloedbaan), Distributie (in welke organen komt het terecht, d.w.z. het beoogde orgaan, maar ook andere organen, meestal de lever en de nieren), Metabolisme (hoe wordt het medicijn in het lichaam gemetaboliseerd (omgezet)) en Eliminatie (hoe wordt het medicijn uiteindelijk uit het lichaam uitgescheiden, meestal via de urine (nieren) of de ontlasting), kortweg 'ADME'. Soms wordt het ook 'ADMET' genoemd, wat toxiciteit toevoegt (veiligheidskenmerken van de stof, zoals de maximaal getolereerde dosis).

Celmodellen

Celmodellen zijn vaak de eerste stap voor het testen van het kandidaatmedicijn. Deze stap wordt *in vitro* genoemd ('in glas', verwijzend naar de glazen kweekschalen die in het verleden gebruikt werden). Voor Duchenne worden meestal spiercelculturen gebruikt. Stoffen worden getest in cellen om hun werkingsmechanisme te onderzoeken, d.w.z. kunnen ze de verwachte veranderingen op moleculair niveau, eiwitproductie, groei of differentiatie induceren.

Bovendien geeft het een indicatie van de toxiciteit van de verbinding, d.w.z. overleven de cellen?

Cellen kunnen afkomstig zijn van gezonde personen of van patiënten, afhankelijk van het specifieke doel. Spiervezels zijn 'post-mitotisch', wat betekent dat ze zich niet kunnen vermenigvuldigen. Spierweefsel bevat echter ook 'satellietcellen', d.w.z. de spierstamcellen die geactiveerd worden bij spierschade, en zich vervolgens vermenigvuldigen en de schade herstellen. Deze satellietcellen kunnen uit een spierbiopt geïsoleerd worden en in schaaltes gekweekt worden. Als alternatief worden cellen geïsoleerd uit een huidbiopt en vervolgens omgezet in spiercellen. Omdat cellen een beperkte capaciteit om zich te delen hebben, worden ze vaak geïmmortaliseerd om een cellijn te creëren met onbeperkte delingscapaciteit. Tegenwoordig worden ook vaak geïnduceerde pluripotente stamcellen gebruikt. Hun voordeel ten opzichte van spiercellen is dat ze een enorm vermeerderingsvermogen hebben; het nadeel is echter dat ze gemodificeerd worden, wat kan leiden tot veranderingen in hun kenmerken. Bovendien moeten deze pluripotente stamcellen eerst worden gedifferentieerd in spierachtige cellen om ze te kunnen gebruiken voor onderzoek naar spierziekten zoals Duchenne.

Het voordeel van celmodellen is dat ze relatief goedkoop zijn en het is gemakkelijk om in korte tijd veel stoffen te screenen. Het nadeel is dat ze een slechte weergave van de situatie in het menselijk lichaam zijn, waar elk weefsel bestaat uit een mix van celtypen, en ook verbonden is met andere organen via bijv. bloed en zenuwen.

Diermodellen

De volgende stap zijn dierproeven, wat *in vivo* ('in het leven') wordt genoemd. In het geval van Duchenne bestaan er verschillende diermodellen die ook het dystrofine-eiwit missen. Houd er rekening mee dat, hoewel deze modellen een genetische mutatie hebben die lijkt op die van patiënten, er geen diermodel is die de pathologie bij mensen exact weerspiegelt. Elk model heeft zijn beperkingen, waarmee rekening moet worden gehouden bij het ontwerpen van experimenten en het interpreteren van de resultaten.

Muismodellen

In medisch onderzoek, ook voor Duchenne, worden muismodellen het meest gebruikt. Muizen hebben het voordeel dat ze relatief klein zijn, wat de benodigde ruimte en kosten beperkt. Voor de behandeling zijn kleine hoeveelheden van het middel nodig. Bovendien fokken muizen gemakkelijk (korte draagtijd en grote nestgroottes).

Het bekendste muismodel voor Duchenne is de zogenaamde *mdx* (X-chromosoom-gebonden spierdystrofie) muis. Deze muis heeft een spontane mutatie in het muis *Dmd*-gen, waardoor het dystrofine-eiwit ontbreekt. Een nadeel van de *mdx* muis is dat de het ziektebeeld relatief mild is in vergelijking met Duchenne patiënten. Dit komt onder meer doordat muizen een veel beter regenererend vermogen hebben (ze vervangen de verloren spiercellen efficiënt door nieuwe). Bovendien kan bij muizen een eiwit dat lijkt op dystrofine het gebrek aan dystrofine deels compenseren. Het nut van dit muismodel hangt af van het doel. *Mdx* muizen zijn geschikt om te testen of een stof die de mutatie wil corrigeren, inderdaad de productie van het dystrofine-eiwit kan herstellen. Verder kan de spier- en ademhalingsfunctie onderzocht worden, waarbij er rekening mee moet worden gehouden dat de spierfunctie minder aangedaan is dan bij mensen. Daarnaast kunnen meerdere spieren in detail worden onderzocht, bijv. door te kijken naar

histologie of veranderingen op moleculair niveau. Een groot voordeel is dat bij muizen het diafragma (middenrif) in gedetailleerd bekeken worden, wat bij mensen niet mogelijk is. Hoewel de meeste skeletspieren niet zo ernstig aangedaan zijn bij de *mdx* muis, is met name het diafragma wel ernstig aangedaan.

Tegenwoordig zijn er naast de *mdx* muis verschillende andere muismodellen beschikbaar; elk met zijn eigen voordelen en beperkingen. Sommigen vertonen een erger ziektebeeld dan anderen en elk model representeert verschillende kenmerken van de pathologie. Ook muizen met specifieke genetische mutaties zijn nuttig om mutatie-specifieke therapieën te testen.

Om er voor te zorgen dat experimenten uitgevoerd door verschillende onderzoeksgroepen vergeleken kunnen worden en om de translatie van kandidaat-therapieën van diermodellen naar mensen te verbeteren, is het belangrijk om gestandaardiseerde onderzoeksmethoden te gebruiken. Deze kunnen [hier](#) gevonden worden.

Hondmodellen

Naast muismodellen worden hondmodellen gebruikt voor Duchenne onderzoek. Er bestaan verschillende hondmodellen (X-chromosoom-gebonden spierdystrofie met dystrofine deficiëntie (CXMD)). Het meest gebruikte en best beschreven model is de golden retriever muscular dystrophy (GRMD) hond. Deze hond mist ook het dystrofine-eiwit door een (spontane) genetische mutatie en het ziekteverloop is beter vergelijkbaar met dat bij mensen. Bovendien vertonen ze hartproblemen, welke meestal veel minder worden gezien in muismodellen. Hoewel deze honden gemiddeld ernstiger aangedaan zijn dan muizen, is er een enorme variatie tussen honden, zelfs binnen hetzelfde nest. Sommige honden vertonen ernstige tekenen van spierdystrofie en sterven jong; anderen hebben slechts milde symptomen en hebben een normale levensduur.

Het op een na meest gebruikte hondmodel is het beagle-model (honden X-gebonden spierdystrofie (CXMD_J)). Deze honden zijn gemaakt door de GRMD-hond te fokken met beagles. Het voordeel is dat dit model veel kleiner is, waardoor de experimentele kosten worden lager zijn. Over het algemeen is, in vergelijking met GRMD-honden, het ziektebeeld milder bij CXMD_J-honden, vanwege hun kleinere formaat. Net als bij GRMD-honden, zijn niet alle CXMD_J-honden even ernstig aangedaan.

Onlangs is er een nieuw hondmodel ontdekt. In tegenstelling tot de GRMD- en CXMD_J-honden, heeft dit model een mutatie in dezelfde regio van het gen waar bij Duchenne patiënten ook de meeste mutaties voorkomen.

Er zijn verschillende redenen waarom honden veel minder voor onderzoek gebruikt worden. Honden zijn veel duurder dan muizen, zowel vanwege hun grootte als vanwege hun langere levensduur. Dit laatste maakt ook dat experimenten langer duren. Bovendien is de enorme variatie tussen individuele honden een groot nadeel voor experimenten. Dat maakt het moeilijk om conclusies te trekken. Dit wordt mede beïnvloed door de kosten. Omdat experimenten met honden erg duur zijn, zijn alleen kleine groepen mogelijk.

Andere diermodellen

Naast muizen en honden zijn er verschillende andere diermodellen, van nature voorkomend of transgeen (d.w.z. genetisch gemodificeerd). Bij katten is een spontane mutatie beschreven. Het ziektebeeld bij deze katten is echter slecht vergelijkbaar met dat bij mensen en daarom wordt dit model zeer weinig gebruikt voor onderzoek.

Ook zijn er andere zoogdiermodellen gemaakt: ratten, varkens en konijnen; elk met zijn eigen ziektekenmerken. Bovendien bestaan er wormen, zebra-vissen en fruitvliegen die mutaties hebben in soortgelijke genen als het *DMD* gen.

Overwegingen bij dieronderzoek

Geen van de diermodellen weerspiegelt volledig de menselijke pathologie. Daarom leiden resultaten verkregen in deze modellen niet noodzakelijk tot dezelfde resultaten bij mensen. Niettemin zijn diermodellen onmisbaar voor de ontwikkeling van geneesmiddelen. Ze tonen een proof-of-concept van de hypothese, zijn nuttig voor het optimaliseren van de therapie (bijv. dosering, behandelingsregime, toedieningsroute) en tonen potentiële toxiciteit. Alvorens een experiment te plannen, moet zorgvuldig worden overwogen wat het beste model is voor dit type medicijn/experiment, hoe het experiment moet worden opgezet en wat de beste uitkomstmaten zijn om te onderzoeken.

Wettelijke vereisten

Gewoonlijk vereisen regelgevende instanties (EMA, FDA, of nationale regelgevende instanties, zoals in Nederland het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen (CBG)) veiligheidstesten bij ten minste twee (relevante) zoogdiersoorten, één knaagdier en één niet-knaagdier (bijv. niet-menselijke primaten). Tegenwoordig wordt er door zowel onderzoekers als toezichthouders veel aandacht besteed aan de implementatie van de 3V's (Vervanging, Vermindering en Verfijning) om het aantal benodigde dieren te verminderen en om ervoor te zorgen dat dierproeven optimaal ontworpen worden.

Klinische onderzoek

Nadat een kandidaatgeneesmiddel alle fasen van preklinisch onderzoek met succes doorlopen heeft, wordt het getest in [klinische studies](#).