

Руководство по клеточной и генной терапии

Генная терапия производит революцию в медицине для людей с угрожающими жизни редкими заболеваниями, предлагая возможность более долгой и здоровой жизни. В некоторых случаях однократное лечение может обеспечить положительный эффект на всю жизнь. Эти методы лечения должны принести огромную пользу пациентам, их семьям и обществу в целом.

Генная терапия — это общее название методов лечения, при которых генетический материал пациента восстанавливается или перестраивается для достижения терапевтического эффекта.

Идея генной терапии заключается в устранении генетической проблемы в ее источнике. Например, если при наследуемом (обычно рецессивно) заболевании мутация в определенном гене приводит к выработке дисфункционального белка, генную терапию можно использовать для доставки копии этого гена, которая не содержит вредную мутацию и запускает выработку функционального белка. Эта стратегия называется генной заместительной терапией.

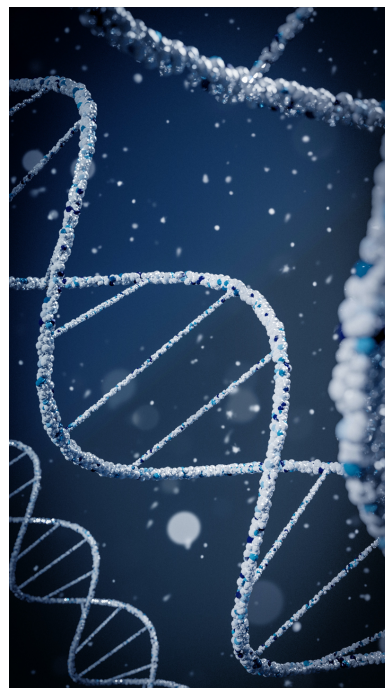
Генная терапия для лечения болезни Помпе пока находится на этапе исследований, хотя процессы разработки становятся более понятными благодаря уже сертифицированным методам лечения других заболеваний. Научные и клинические исследования чрезвычайно важны и имеют большую ценность для обеспечения безопасности и эффективности этих методов лечения в долгосрочной перспективе. Вероятно, потребуется несколько лет для разработки успешной генной терапии болезни Помпе, которая может соответствовать или не соответствовать сегодняшним ожиданиям.

Генная терапия делится на два типа

Генная терапия соматических клеток

При генной терапии соматических клеток (SCGT) терапевтические гены действуют только на самих пациентов и не наследуются потомством. Соматическая генная терапия представляет собой фундаментальные и клинические исследования, в которых для лечения заболевания используется терапевтическая ДНК.

Такие моногенные нарушения, как болезнь Помпе, являются хорошими кандидатами для генной терапии соматических клеток.



Руководство по клеточной и генной терапии

Генная терапия зародышевых клеток

При генной терапии зародышевых клеток (GGT) зародышевые клетки (сперматозоиды, яйцеклетки и оплодотворенные яйцеклетки) модифицируются путем введения функциональных генов в их геномы. Модификация зародышевой клетки приводит к тому, что все клетки организма содержат модифицированный ген. Таким образом, изменение является наследуемым и передается следующим поколениям. Многие страны запрещают применение GGT у людей по техническим и этическим причинам и потому, что пока имеется недостаточно знаний о возможных рисках для будущих поколений, а также из-за более высоких рисков по сравнению с SCGT

Генная терапия для лечения болезни Помпе

В настоящее время для лечения болезни Помпе изучаются три различные стратегии SCGT:

1. Аденоассоциированный вирус (AAV)

Для репликации вирусы вводят свой генетический материал в клетку-хозяина, заставляя клеточный аппарат хозяина использовать его в качестве «чертежей» для вирусных белков. Ученые используют это путем замены генетического материала вируса терапевтическим генетическим материалом.

При терапии на основе AAV используется оболочка аденоассоциированного вируса (AAV). Этот вирус безвреден. Из вектора на основе AAV удаляются гены, вызывающие заболевание, так что они утрачивают эффективность; при этом добавляется представляющий интерес ген. Существуют различные подтипы AAV, которые обозначаются цифрами. Например, подтип AAV5 или AAV8 нацелен на печень, а подтип AAV1 нацелен на мышечные клетки.

Конструкция вектор/ген почти не интегрируется в геном человека (в хромосомы, которые несут ДНК), но сохраняется в качестве внехромосомного объекта. Это имеет последствия, поскольку при делении клетки конструкция AAV не копируется, в отличие от остальной ДНК. Таким образом, AAV будет разводиться с течением времени по мере деления клеток (например, стволовых клеток крови).

При болезни Помпе терапия обычно предназначена для воздействия на клетки печени или клетки мышц. Головной мозг защищен от инфекции мембраной, известной как гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), поэтому не ожидается, что эти типы генной терапии AAV будут исправлять пораженные клетки головного мозга или центральной нервной системы (ЦНС). Существуют другие векторы AAV, которые могут нацеливаться на головной мозг, но в настоящее время они не рассматриваются для лечения болезни Помпе.

Генная терапия AAV, как правило, будет проводиться в виде однократной внутривенной (в/в) инфузии, хотя, вероятно, системы здравоохранения будут настаивать на регулярном мониторинге в течение многих лет после инфузии.

Два типа генной терапии AAV включают:

Руководство по клеточной и генной терапии

Терапию, нацеленную на печень

Эта терапия обеспечивает терапевтическую ДНК для печени, чтобы непрерывно вырабатывать здоровую копию фермента, отсутствующего при болезни Помпе (альфа-глюкозидаза, или GAA). Этот здоровый фермент затем доставляется в клетки организма (за исключением нервной системы), в частности, в мышечные клетки, таким же образом, как при непрерывной инфузии во время ферментной заместительной терапии (ФЗТ).

Терапию, нацеленную на мышцы

Эта терапия обеспечивает терапевтическую ДНК непосредственно для мышечных клеток (волокон), чтобы скорректировать генетический дефект в мышечной ДНК. Затем обработанные мышечные клетки должны быть способны вырабатывать фермент GAA для восстановления нормальной функции мышц и остановки прогрессирования заболевания.

Преимущества генной терапии на основе AAV

- Доставляет ген относительно простым способом
- Почти не интегрируется в ДНК хозяина
- Вероятность канцерогенеза мала
- Независима от мутации GAA у пациента

Недостатки генной терапии на основе AAV

- Иммунный ответ на вектор AAV будет развиваться таким образом, что повторное лечение будет невозможно
- Не все пациенты будут соответствовать критериям для проведения лечения в связи с наличием уже существующих антител
- Терапия со временем теряет эффективность
- При высоких дозах вируса может возникать токсичность для печени
- У детей AAV будет разводиться с течением времени при росте ребенка
- Нельзя лечить пациентов с классической инфантильной формой в возрасте до ~4 лет с печенью в качестве мишени из-за их роста и разведения терапии
- Трудности с доступом к головному мозгу

2. Лентивирусная генная терапия

Лентивирусная генная терапия — это метод, при котором берутся собственные стволовые клетки пациента из костного мозга, изменяются вне организма (ex-vivo) в стерильной среде, а затем модифицированные клетки вводятся обратно в организм. Поскольку методика связана с постоянной модификацией стволовых клеток, она может обеспечить пожизненную терапию после одного вмешательства. Она также оказывает терапевтическое действие на ЦНС. Недавний пример — одобрение Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA) лентивирусной генной терапии для лечения ЦНС при сульфатидном липидозе, заболевании, связанном с болезнью Помпе.

Процесс лечения состоит из ряда этапов, которые могут занять несколько недель:

Руководство по клеточной и генной терапии

1. Подготовка организма таким образом, чтобы стволовые клетки костного мозга высвобождались в кровоток.
2. Взятие крови у пациента, чтобы собрать достаточное количество стволовых клеток костного мозга.
3. Модифицирование собранных стволовых клеток в стерильных условиях путем введения лентивирусного вектора, содержащего терапевтический ген.
4. Подготовка костного мозга с помощью прекондиционированного препарата, такого как бусульфан.
5. Внутривенная (в/в) инфузия модифицированных стволовых клеток костного мозга.
6. Костный мозг становится живой фабрикой терапевтического белка, обеспечивая постоянный источник ФЗТ в крови.
7. Клетки костного мозга проходят через гематоэнцефалический барьер и секретируют терапевтический белок в ЦНС.

Преимущества лентивирусной генной терапии

- Однократное вмешательство для пожизненного эффекта лечения
- Также можно лечить ЦНС
- Независима от мутации GAA
- Продемонстрировала безопасность в нескольких клинических исследованиях других заболеваний и недавно была одобрена для лечения сульфатидного липидоза
- Должна подходить для пациентов с классической инфантильной формой, независимо от возраста
- Не исключает пациентов на основании наличия антивирусных антител

Недостатки лентивирусной генной терапии

- Интегрируется в ДНК стволовых клеток костного мозга: используется низкая доза для минимизации риска повреждения ДНК.
- Препараты прекондиционирования являются инвазивными и требуют осторожного введения, чтобы избежать побочных эффектов. Эта процедура является частью стандартных режимов трансплантации костного мозга, которые на сегодняшний день являются клиническими процедурами, применяемыми во всем мире, и которые являются очень безопасными.

3. Антисмысловые олигонуклеотиды (АСО или АОН)

Антисмысловые олигонуклеотиды способны влиять на процессинг РНК и модулировать экспрессию белка. Этот тип терапии может применяться, например, при мутациях GAA, которые влияют на процессинг РНК. Среди пациентов европейского происхождения с поздним началом заболевания ~90 % всех пациентов имеют одинаковую мутацию с.-32-13T>G (IVS1) GAA, которая влияет на процессинг РНК. Были созданы АОН, которые могут корректировать процессинг РНК в клетках пациентов с IVS1, а также пациентов с другими, более редкими мутациями.

Руководство по клеточной и генной терапии

Бокс 1: РНК — это транскрипт на основе ДНК, из которого вырабатывается белок. Срок жизни РНК, как и белка, короток, поэтому ее следует производить по мере необходимости для выработки белка. РНК не изменяет ДНК, это лишь ее копия. После использования она разрушается. Поэтому АОН, модулирующие (корректирующие) РНК, также должны вводиться на регулярной основе. АОН химически модифицированы для повышения их стабильности; после поглощения клетками они намного более стабильны по сравнению с белками. Поэтому ожидается, что при применении в клинике потребуются регулярные инфузии АОН, которые будут менее частыми, чем ФЗТ.

Преимущества терапевтических антисмысловых олигонуклеотидов при болезни Помпе

- Восстановление нормальной выработки белка GAA
- Механизм отличен от механизма ФЗТ, поэтому могут быть полезны пациентам, которые плохо отвечают на ФЗТ
- Возможна комбинация с ФЗТ
- Актуальны для большинства пациентов с поздним началом болезни Помпе европейского происхождения, поскольку они имеют мутацию IVS1, которая может быть скорректирована с помощью АОН

Недостатки терапевтических антисмысловых олигонуклеотидов при болезни Помпе

- Необходимо введение в течение всей жизни — не однократное лечение
- Побочные эффекты в настоящее время не изучены
- Не подходит для пациентов с классической инфантильной формой болезни Помпе
- Специфичны к мутации: подходят только пациентам с определенной мутацией

Иммунный ответ на генную терапию

Как и в случае других видов терапии, таких как ферментная заместительная терапия (ФЗТ), на генную терапию может возникать иммунный ответ — образование антител. В легких случаях он может контролироваться обычными препаратами до тех пор, пока симптомы не исчезнут, но у некоторых людей могут вырабатываться нейтрализующие антитела к терапии, которые препятствуют нормальному действию активного компонента.

В настоящее время проводятся исследования для изучения образования антител к новым методам терапии, и, вероятно, будут разработаны меры для предотвращения формирования или удаления антител во время лечения. Они усложнят протоколы генной терапии, но должны требоваться только во время лечения, то есть для большинства людей только один раз в течение жизни.

Руководство по клеточной и генной терапии

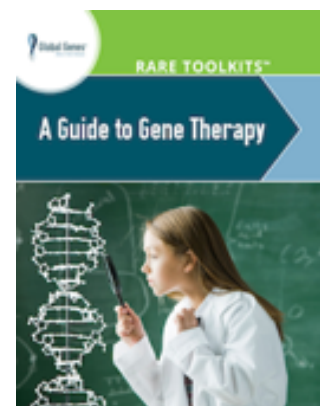
Одним из примеров лечения, применяемого для контроля антител, является плазмаферез, или терапевтическая плазмафильтрация (ТПФ). Это процесс переливания крови, при котором кровь пациента берут из вены; плазму, содержащую антитела, заменяют отфильтрованной или не содержащей антител плазмой, а затем вводят кровь пациенту. Пример этого процесса можно найти [здесь](https://www.verywellhealth.com/plasma-exchange-ms-treatment-2440905):

<https://www.verywellhealth.com/plasma-exchange-ms-treatment-2440905>

Дополнительные материалы по клеточной и генной терапии

В интернете появляется все больше ресурсов по клеточной и генной терапии. Вы можете получить эту информацию в национальной организации болезни Помпе, у Вашего специалиста, а также на веб-сайтах, например:

1. Брошюра «Наука генной терапии». Вы можете загрузить эту брошюру с веб-сайта <https://sparktx.com/scientific-platform-programs/about-gene-therapy/>
2. Это видео от Американского общества генной и клеточной терапии (ASGCT): www.asgct.org/education/pompe-disease
3. Набор инструментов Global Genes для генной терапии <https://globalgenes.org/wp-content/uploads/2018/11/Guide-to-Gene-Therapy-Toolkit-spread-DIGITAL-1.pdf>

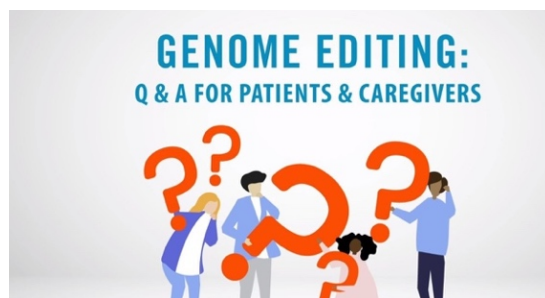


Генная терапия: ответы на ваши вопросы

Видео, представленное в формате вопросов и ответов, от Национальной организации по редким заболеваниям (NORD).

Руководство по клеточной и генной терапии

Новейшее дополнение к [видео-библиотеке редких заболеваний NORD](#) — это серия из четырех видео по редактированию генома.



Информация о клинических исследованиях

Существует несколько исследовательских групп, изучающих генную терапию болезни Помпе, каждая на разных стадиях. Некоторые из этих потенциальных методов лечения уже были изучены в клинических исследованиях, в то время как другие находятся на доклинической стадии и изучаются на животных.

Информация о научных исследованиях, приглашающих к участию пациентов с болезнью Помпе, представлена на международных и национальных веб-сайтах, например:

- www.ClinicalTrials.gov
- www.clinicaltrialsregister.eu

и на веб-сайте Международной Ассоциации болезни Помпе www.worldpompe.org.

Благодарности

Мы хотим поблагодарить наших медицинских консультантов за их вклад и проверку этого документа:

Д-ра Пима Пийнаппеля (Pim Rijnappel), медицинский центр университета им. Эразма, Роттердам, Нидерланды.

почетного профессора Арнольда Рейзера (Arnold Reuser), медицинский центр университета Эразма, Роттердам, Нидерланды.

Руководство по клеточной и генной терапии

Отказ от ответственности: Международная Ассоциация болезни Помпе (IPA) не поддерживает и не рекомендует какие-либо изделия, лекарственные препараты, методы лечения или информацию, представленную на этих страницах. Статьи на веб-сайте Международной Ассоциации болезни Помпе предназначены только для информационных целей. Мы настоятельно рекомендуем Вам обсудить все лекарственные препараты, методы лечения и/или изделия со своим врачом.