

## Průvodce buněčnou a genovou terapií

Genová terapie představuje revoluci v medicíně pro lidi s život ohrožujícími, vzácnými stavy, která nabízí potenciál pro delší a zdravější život. V některých případech může mít jednorázová léčba celoživotní přínos. Tyto terapie by měly přinést obrovské výhody pacientům, jejich rodinám a širší společnosti.

Genová terapie je souhrnný název terapií, při kterých je genetický materiál pacienta opraven nebo restrukturalizován k zajištění léčebného účinku.

Koncept genové terapie spočívá v nápravě genetického problému u jeho zdroje. Pokud například u (obvykle recesivně) dědičného onemocnění mutace v určitém genu vede k produkci dysfunkční bílkoviny, mohla by být použita genová terapie k dodání kopie tohoto genu, který neobsahuje zhoubnou mutaci, a vytváří proto funkční bílkovinu. Tato strategie se označuje jako genová substituční terapie.



U Pompeho nemoci se genové terapie stále ještě zkoumají, i když vývojovým procesům již dobře rozumíme díky licencovaným léčbám jiných onemocnění. Výzkumná a klinická hodnocení jsou nesmírně důležitá a vysoce hodnotná pro zajištění dlouhodobé bezpečnosti a účinnosti těchto terapií. Je pravděpodobné, že vývoj úspěšné genové terapie Pompeho nemoci bude trvat několik let, a výsledek může, ale také nemusí splnit současná očekávání.

### Dva typy genové terapie

#### Genová terapie somatických buněk

Při genové terapii somatických buněk (SCGT) ovlivňují terapeutické geny pouze jednotlivého pacienta a nedědí se u potomků. Somatická genová terapie představuje základní a klinický výzkum, ve kterém se k léčbě onemocnění používá terapeutická DNA.

Poruchy jednoho genu, jako je Pompeho nemoc, jsou dobrými kandidáty pro genovou terapii somatických buněk.

#### Zárodečná linie

Při genové terapii zárodečné linie (GGT) jsou zárodečné buňky (sperma, vajíčka a oplodněná vajíčka) modifikovány zavedením funkčních genů do jejich genomů. Úprava zárodečné buňky způsobí, že všechny buňky organismu budou obsahovat modifikovaný gen. Změna je proto dědičná a přechází na pozdější generace. Mnoho zemí zakazuje použití GGT u lidí z technických a etických důvodů a vzhledem k tomu, že nejsou dostatečné znalosti o možných rizicích pro budoucí generace a vyšších rizicích oproti SCGT.

# Genové terapie pro Pompeho nemoc

V současné době se zkoumají tři různé strategie SCGT pro Pompeho nemoc:

## 1. Adenoasociovaný virus (AAV)

Aby se viry mohly replikovat, zavádějí svůj genetický materiál do hostitelské buňky a oklamou buněčný mechanismus hostitele, aby jej mohly používat jako schéma pro virové proteiny. Vědci toho využívají tak, že nahrazují genetický materiál viru terapeutickým genetickým materiálem.

V terapii založené na AAV se používá obal adenoasociovaného viru (AAV). Jedná se o neškodný virus. Vektor AAV má odstraněné geny způsobující onemocnění, takže již není účinný, a je k němu přidán terapeutický gen. Existují různé podtypy AAV, které jsou označeny číslem. Například podtyp AAV5 nebo AAV8 cílí na játra a podtyp AAV1 cílí na svalové buňky.

Vektorový/genový konstrukt je stěží integrován v lidském genomu (v chromozomech, které nesou DNA), ale přetrvává jako extrachromozomální prvek. To znamená, že při dělení buňky není konstrukt AAV duplikován jako veškerá ostatní DNA. Proto bude AAV časem zředěn dělením buněk (např. kmenové buňky).

U Pompeho nemoci bude léčba obvykle navržena tak, aby se zaměřila na jaterní nebo svalové buňky. Mozek je chráněn před infekcí membránou známou jako hematoencefalická bariéra (BBB), takže se neočekává, že by tyto typy genových terapií AAV korigovaly nemocné buňky v mozku nebo v centrálním nervovém systému (CNS). Existují další vektory AAV, které mohou cílit na mozek, ale ty v současné době nejsou zvažovány pro léčbu Pompeho nemoci.

Genová terapie s AAV bude obecně podávána jako jednorázová intravenózní (i.v.) infuze, i když je pravděpodobné, že systémy zdravotní péče budou trvat na pravidelném sledování po mnoho let po podání infuze.

Mezi dva typy genových terapií s AAV patří:

### Terapie cílené na játra

Tyto terapie zavádějí terapeutickou DNA do jater, aby se nepřetržitě produkovala zdravá kopie enzymu, který je u Pompeho nemoci vadný (alfa-glukosidáza neboli GAA). Tento zdravý enzym je poté dodáván do buněk v těle (kromě nervového systému), zejména do svalových buněk, podobně jako kontinuální infuze enzymové substituční terapie (ERT).

### Terapie cílené na svaly

Tyto terapie poskytují přímo svalovým buňkám (vláknům) terapeutickou DNA, která potlačuje genetickou poruchu svalové DNA. Léčené svalové buňky by pak měly být schopny produkovat enzym GAA, aby obnovily normální svalovou funkci a zastavily progresi onemocnění.

# Průvodce buněčnou a genovou terapií

## Výhody genových terapií s AAV

- Gen lze dodávat relativně snadným způsobem.
- Stěží se může integrovat do hostitelské DNA.
- Pravděpodobnost tumorigeneze je malá.
- Nezávislé na pacientově mutaci GAA.

## Nevýhody genových terapií s AAV

- Imunitní odpověď na vektor AAV se vyvine tak, že nebude možné léčbu opakovat.
- Ne všichni pacienti budou způsobilí kvůli již existujícím protilátkám.
- Léčba časem ztrácí účinnost.
- Při vysokých virových dávkách se může vyskytnout jaterní toxicita.
- U dětí bude AAV ředěn růstem dítěte v průběhu času.
- Pacienty s klasickou infantilní formou nelze léčit prostřednictvím jater před dosažením věku přibližně 4 let kvůli růstu a ředění léčby.
- Je obtížné dosáhnout mozku.

## 2. Lentivirová genová terapie

Lentivirová genová terapie je technika, která využívá vlastní kmenové buňky pacienta z kostní dřeně, upravuje je mimo tělo (ex-vivo) ve sterilním prostředí a poté vrací modifikované buňky zpět do těla. Vzhledem k tomu, že technika zahrnuje trvalou modifikaci kmenových buněk, má potenciál poskytovat celoživotní léčbu po jediné intervenci. Poskytuje také léčebný efekt v CNS. Nedávným příkladem je schválení, které EMA udělila lentivirové genové terapii k léčbě CNS u MLD, což je porucha související s Pompeho nemocí.

Proces léčby sestává z několika kroků, které mohou trvat několik týdnů:

1. Příprava těla na to, aby se do krevního oběhu uvolňovaly hematopoetické kmenové buňky.
2. Odběr krve pacienta, který zajistí dostatečné množství kmenových buněk z kostní dřeně.
3. Úprava odebraných kmenových buněk ve sterilním zařízení vložením lentivirového vektoru obsahujícího terapeutický gen.
4. Příprava kostní dřeně pomocí přípravného léku, jako je busulfan.
5. Podání intravenózní (i.v.) infuze modifikovaných kmenových buněk z kostní dřeně.
6. Kostní dřeň se stává živou továrnou na terapeutický protein a nepřetržitým zdrojem ERT v krvi.
7. Kmenové buňky odvozené z kostní dřeně procházejí hematoencefalickou bariérou a vylučují terapeutický protein v CNS.

## Výhody lentivirových genových terapií

- Jedna intervence pro celoživotní léčbu
- Možnost léčby CNS
- Nezávislost na mutaci GAA

## Průvodce buněčnou a genovou terapií

- Prokázaná bezpečnost v několika klinických hodnoceních jiných onemocnění a nedávné schválení pro MLD
- Měly by být vhodné pro pacienty s klasickou infantilní formou nemoci bez ohledu na věk
- Bez vyloučení pacientů na základě antivirových protilátek

### Nevýhody lentivirových genových terapií

- Integruje se do DNA kmenových buněk z kostní dřeně: k minimalizaci rizika poškození DNA se používá nízká dávka.
- Přípravné léky jsou invazivní a vyžadují pečlivé dávkování, aby se zabránilo vedlejším účinkům. Tento výkon je součástí standardních režimů transplantace kostní dřeně, které jsou doposud klinickými postupy aplikovanými po celém světě a jsou velmi bezpečné.

## 3. Protisměrné oligonukleotidy (ASO nebo AON)

Protisměrné oligonukleotidy jsou schopny ovlivnit zpracování RNA a modulovat expresi proteinu. Tento typ terapie lze použít například pro mutace GAA, které ovlivňují zpracování RNA. U pacientů evropského původu s pozdním nástupem nemoci je přibližně 90 % všech pacientů nositelem stejné mutace GAA c.-32-13T>G (IVS1), která ovlivňuje zpracování RNA. Byly vytvořeny AON, které mohou korigovat zpracování RNA v buňkách od pacientů IVS1 i u pacientů s jinými, vzácnějšími mutacemi.

Pole 1: RNA je transkript, který se vytváří z DNA a ze kterého se vytváří bílkovina. RNA má stejně jako bílkoviny krátkou životnost a musí vznikat na vyžádání, aby se vytvářely bílkoviny. RNA nemění DNA, jedná se pouze o její kopii. Po použití degraduje. AON, které modulují (správnou) RNA, proto musí být také dodávány pravidelně. AON jsou chemicky modifikovány, aby se zvýšila jejich stabilita; jakmile jsou přijaty buňkami, jsou mnohem stabilnější ve srovnání s bílkovinami. Proto se očekává, že při aplikaci na klinice budou u AON zapotřebí pravidelné infuze, které jsou ve srovnání s ERT méně časté.

### Výhody terapeutických protisměrných oligonukleotidů pro Pompeho nemoc

- Obnoví normální produkci bílkoviny GAA.
- Jiný mechanismus než ERT, takže by mohl být přínosný pro pacienty, kteří na ERT neodpovídají dobře.
- Může být využitelná kombinace s ERT.
- Relevantní pro většinu pacientů evropského původu s pozdním nástupem Pompeho nemoci, protože tyto pacienti nesou mutaci IVS1, kterou lze korigovat pomocí AON.

### Nevýhody terapeutických protisměrných oligonukleotidů pro Pompeho nemoc

- Celoživotní podávání – *nejedná se o jednorázovou léčbu.*
- Vedlejší účinky nejsou v současné době známy.
- Nevhodné pro pacienty s klasickou infantilní formou Pompeho nemoci s nástupem v dětství.
- Vhodné pro specifické mutace: pouze pacienti s konkrétní mutací.

# Imunitní odpověď na genové terapie

Stejně jako u jiných terapií, jako je enzymová substituční terapie (ERT), může dojít k protilátkové odpovědi na genové terapie. V mírných případech je lze léčit běžnými léky až do ústupu příznaků, ale u některých osob se mohou vytvořit neutralizační protilátky proti léčbě, které brání zamýšlenému působení účinné látky.

Probíhá výzkum s cílem porozumět protilátkové odpovědi na nové terapie a pravděpodobně budou vyvinuta opatření k prevenci nebo odstranění protilátek během léčby. Tato opatření přispějí ke složitosti protokolů genové terapie, ale měla by být vyžadována pouze během léčby, takže u většiny lidí pouze jednou za život.

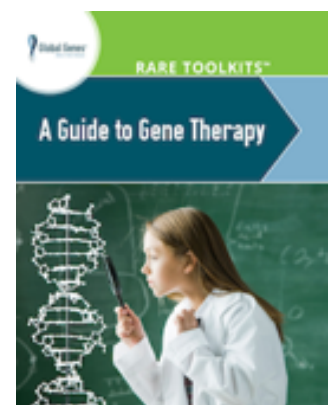
Jedním z příkladů zvládnání protilátek je plazmaferéza nebo terapeutická výměna plazmy (TPE). Jedná se o transfuzi krve, při které se krev pacienta odebírá ze žíly, plazma obsahující protilátky je nahrazena filtrovanou nebo neovlivněnou plazmou a poté je krev vrácena zpět. Příklad tohoto procesu je k dispozici zde:

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

## Další informace o buněčných a genových terapiích

Na internetu neustále přibývají zdroje, kde se dozvíte více o buněčných a genových terapiích. Informace Vám mohou poskytnout národní organizace pro Pompeho nemoc nebo Váš odborný lékař a další informace naleznete na webu, například:

1. Brožura Vědecké informace o genové terapii – tuto brožuru si můžete stáhnout na adrese <https://sparktx.com/scientific-platform-programs/about-gene-therapy/>.
2. Toto video od ASGCT: [www.asgct.org/education/pompe-disease](http://www.asgct.org/education/pompe-disease)
3. Soubor nástrojů pro genovou terapii Global Genes <https://globalgenes.org/wp-content/uploads/2018/11/Guide-to-Gene-Therapy-Toolkit-spread-DIGITAL-1.pdf>





# Genová terapie: Odpovědi na Vaše otázky

Video ve formátu otázek a odpovědí prezentované Národní organizací pro vzácná onemocnění (*National Organization for Rare Disorders, NORD*).

Nejnovějším přírůstkem do [knihovny videí ke vzácným onemocněním NORD](#) je soubor čtyř videí o genomické editaci.



## Informace o klinických hodnoceních

Existuje několik výzkumných skupin zkoumajících genovou terapii Pompeho nemoci a každá z nich je v různých fázích. Některé z těchto potenciálních terapií již byly zkoumány v klinických hodnoceních, zatímco jiné jsou v předklinické fázi a jsou testovány na zvířatech.

Informace o výzkumných studiích nabírajících pacienty s Pompeho nemocí lze nalézt na mezinárodních a národních webových stránkách, například:

- [www.ClinicalTrials.gov](http://www.ClinicalTrials.gov)
- [www.clinicaltrialsregister.eu](http://www.clinicaltrialsregister.eu)

a na webových stránkách IPA [www.worldpompe.org](http://www.worldpompe.org).

### Poděkování

Rádi bychom poděkovali našim lékařským poradcům za jejich příspěvek a kontrolu tohoto dokumentu:

Dr. Pim Pijnappel, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Nizozemsko.

Prof. Emeritus Arnold Reuser, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Nizozemsko.

**Vyloučení odpovědnosti:** IPA neschvaluje žádné produkty, léky, léčbu nebo informace uvedené na těchto stránkách. Články na webu IPA jsou pouze informativní. Důrazně doporučujeme, abyste si o všech lécích, léčbě a/nebo přípravcích promluvili se svým lékařem.