

# Současné možnosti genové terapie dědičných onemocnění sítnice a zrakového nervu

Šárka Skorkovská

NeoVize oční klinika Brno

LF Masarykovy univerzity v Brně



# Dědičná onemocnění sítnice a ZN

- Dědičná onemocnění sítnice a ZN = častá příčina závažné ztráty zraku v dětství a časně dospělosti, terapeutické možnosti - minimální
- Genová terapie
  - přenos funkční kopie genu
    - nahradit sníženou nebo nulovou funkci proteinu kódovaného mutovaným genem
    - regenerace či stabilizace narušené struktury sítnice
- Oko ideální cílový orgán – malý rozměr, imunologické privilegium, kontralaterální kontrola

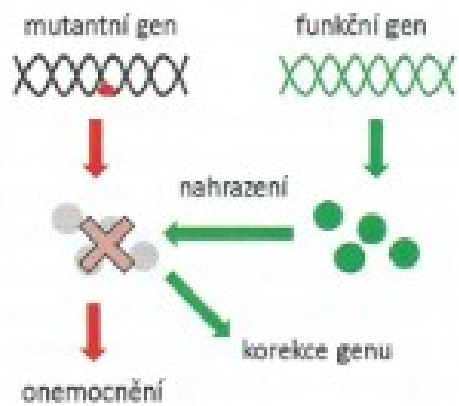


# Předpoklady pro genovou terapii

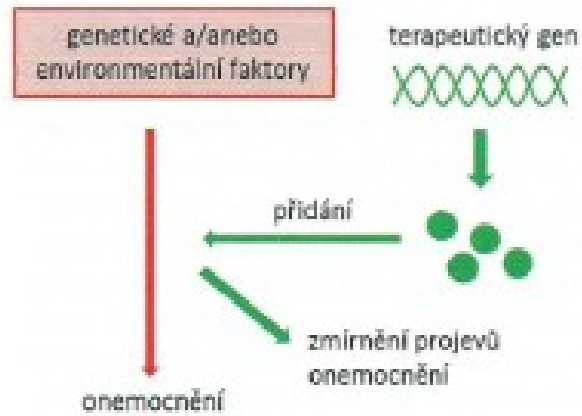
- Mezinárodní registr klinických studií „<https://clinicaltrials.gov>“
- Nutná znalost příčiny geneticky podmíněné choroby = určení odpovědného genu  
databáze OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man)
- Strategie genové terapie  
nedostatek produktu mutovaného genu → začlenění normální sekvence do genomu  
vnesení terapeutického genu → zmírnění projevů onemocnění
- Genová th  
in vivo = cílové buňky po dobu léčby součástí organismus  
in vitro = cílové bb odebrány z organismu a po léčbě vráceny zpět do organismus



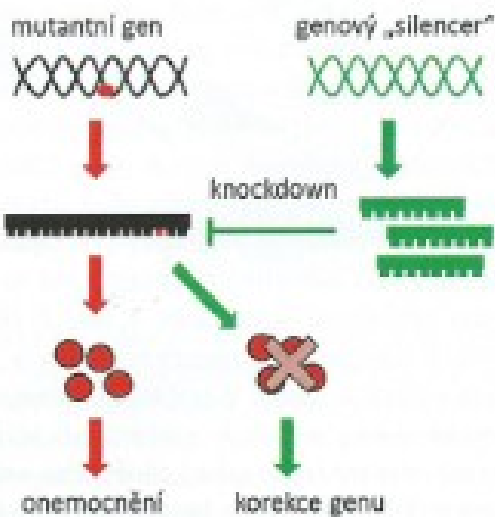
### A) Nahrazení genu



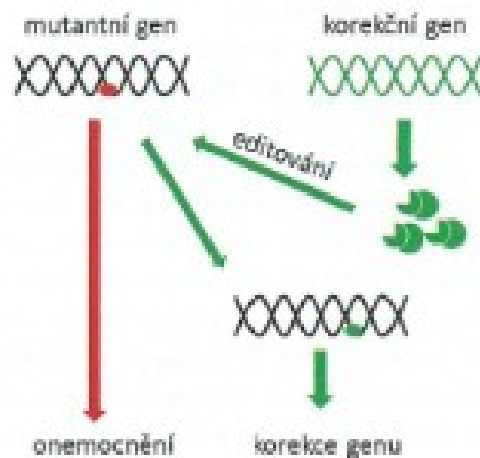
### B) Přidání genu



### C) Vypnutí / Utišení genu



### D) Editování genu



Možnosti genové terapie



# Vektory v genové terapii

- Přenos genetické informace do cílových buněk pomocí vektorů → funkční exprese genu → vyjádření genetické informace → transdukovaná informace
- Ideální vektor = průnik do velkého počtu cílových bb a exprese vneseného genu dostatečně dlouhá → dosažení terapeutického účinku
- Vlastnosti vektoru = netoxický, bez vyvolání virových infekcí či autoimunitní reakce
- Vektory:
  - virové → adenovirové a retrovirové
  - nevirové → fyzikální a chemické, řada nevýhod

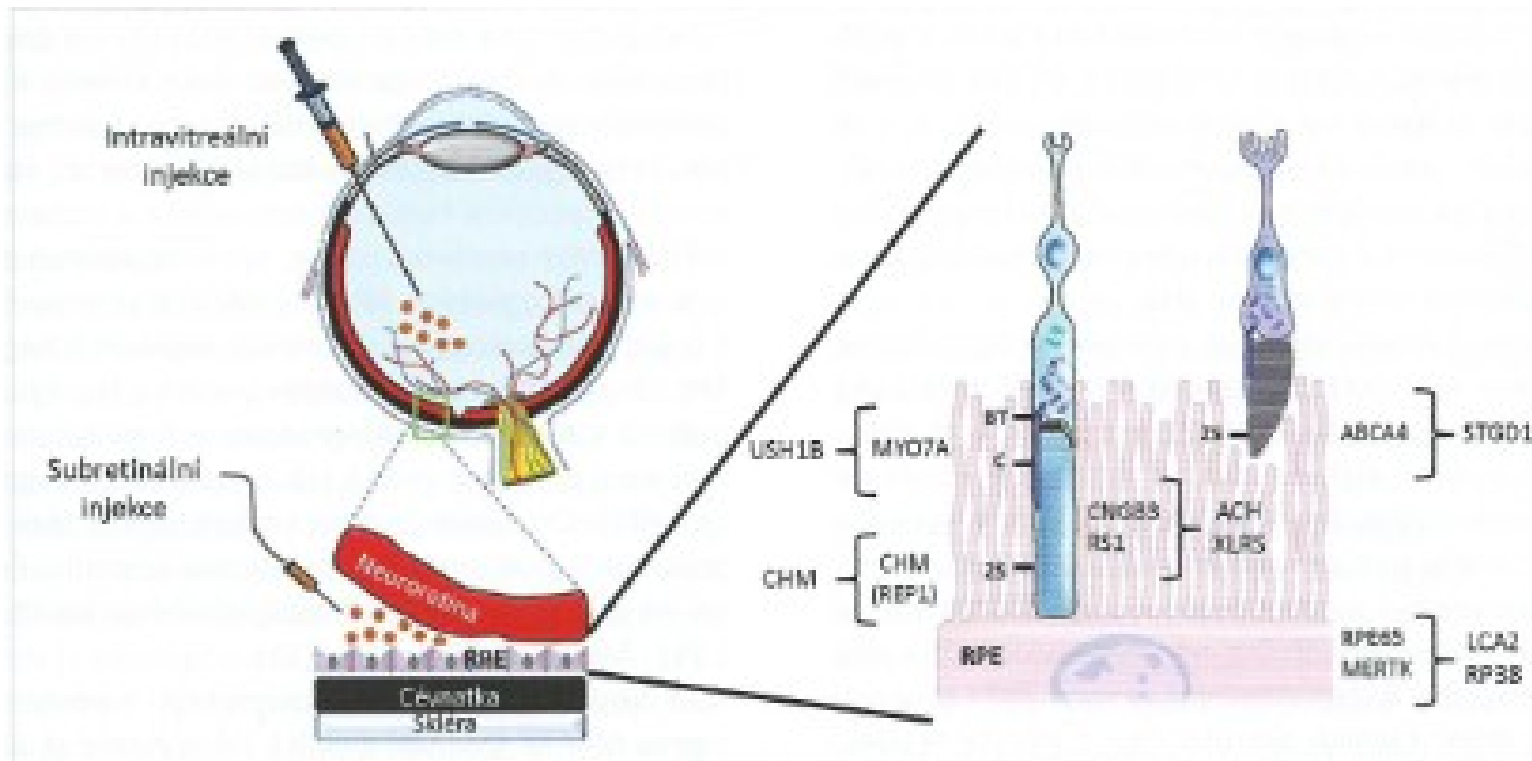


# Aplikace vektorů

Způsob podání	Cílové buňky	Výhody	Nevýhody
Intravenózní	Vnitřní vrstvy sítnice	Žádné nežádoucí oční účinky	Fagocytóza části a transfekce jiných tkání
Periokulární	Fotoreceptory, RPE	Neinvazivní pro sítnici	Nízká transfekce sítnice a RPE
Intravitreální	Vnitřní vrstvy sítnice	Zřídka oční nežádoucí účinky	Riziko endoftalmitidy a odchlípení sítnice
Subretinální	Fotoreceptory, RPE	Nejvyšší účinek transfekce	Invazivní, odchlípení sítnice → buněčná smrt
Suprachorioideální	Fotoreceptory, RPE	Nedochází k elevaci neuroretiny	Vyšší rychlost eliminace



# Aplikace vektorů



Obr. 3 Způsoby aplikace virových vektorů a lokalizace proteinů kódovaných geny, jejichž mutace způsobují retinální onemocnění a pro které probíhají klinické zkoušky s genovou terapií [převzato z <http://www.retinalphysician.com> a 53].  
**ABCA4** - ATP-binding cassette, subfamily A, member 4; **ACH** - achromatopsie; **BT** - bazální tělisko; **C** - cilium; **CHGB3** - Cyclic Nucleotide Gated Channel Beta 3; **CHM** - chorioideremie; **CHM (REP1)** - Rab Escort Protein 1; **LCA2** - Leberova kongenitální amauroza typ 2; **MERTK** - Mer receptor tyrosine kinase; **MYO7A** - myosin VIIA; **RPE** - retinální pigmentový epitel; **RPE65** - retinal pigment epithelium-specific 65 kDa protein; **RP38** - retinitis pigmentosa 38; **RS1** - retinoschiz; **STGD1** - Stargardtova choroba typ 1; **USH1B** - Usherův syndrom typ 1B; **XLRS** - X-vázaná retinoschiz; **ZS** - zevní segment

# • Genové terapie onemocnění sítnice v klinických studiích

- Fáze I – nerandomizovaná skupina dobrovolníků – stanovení maximálně tolerované dávky a její bezpečnosti
- Fáze II – zjišťování účinné dávky léku na pacientech v nerandomizované studii
- Fáze III – porovnání účinnosti nového léku se standardní terapií ve dvou skupinách pacientů, dvojitě zaslepená studie, podle výsledků registrace nového léku
- Fáze IV – sledování nežádoucích účinků léčiva po registraci a při dlouhodobém užívání





# Leberova kongenitální amauroza 2(LCA2)

- Geneticky heterogenní skupina onemocnění podmíněná mutacemi v 22 genech
- Autozomálně recesivní na podkladě mutace v genu RPE65 – recyklace opsinu a rodopsinu → konverze *all-trans* – retinoidy na 11- *cis* retinal
- Porucha funkce nebo absence RPE65 → degenerace fotoreceptorů
- Subretinální aplikace rekombinantního adenoviru → zlepšení zrakových funkcí
- Účinek léčby závislý na podaném množství vektoru



# Retinitis pigmentosa 38

- Geneticky heterogenní progresivní onemocnění sítnice s mutacemi v nejméně 50 genech
- RP38 – vzácná autozomálně recesivní forma RP asociovaná s mutacemi v genu *MERTK* ( Mer proto-oncogene, tyrosine kinase) – enzym potřebný k fagocytóze zevních segmentu fotoreceptorů v RPE, ztráta enzymu → apoptóza fotoreceptorů a degenerace sítnice, šeroslepost, postižení čípků a atrofie makuly
- Klinická studie fáze I – subretinální aplikace AAV2 vektoru obnovujícího funkci genu *MERTK*



# Stargardtova choroba

- Geneticky heterogenní skupina onemocnění podmíněná mutacemi v 3 genech, výskyt 1 z 10000 lidí
- Nejčastější typ autozomálně recesivní STGD1 na podkladě mutace v genu *ABCA4* kódování proteinu transportu použitých částí fotoreceptorů do RPE → akumulace toxického bisretinoidu A2E (dimer vit. A) → apoptóza bb RPE a fotoreceptorů
- Lentivirové vektory, klinická studie fáze I/II s lékem StarGen, výsledky nejsou publikovány



# Chorioideremie

- Dědičnost vázaná na X chromozom, 1 z 50000 mužů
- Mutace v genu *CHM* → porucha transportu opsinu do zevních segmentů fotoreceptorů, porucha migrace melanozomů v bb RPE a ↓ fagocytózy zevních segmentů fotoreceptorů v bb RPE → poškození cévnatky a sítnice včetně RPE
- Příprava AAV vektoru → vpravení genu *CHM* → do lymfocytů a fibroblastů od pacientů s chorioideremií → lentivirový vektor → aplikace funkční kopie genu *CHM* do subretinálního prostoru → zvýšení citlivosti sítnice při mikroperimetrii a zlepšení ZO

# Leberova hereditární neuropatie optiku (LHON)

- Nejčastější mitochondriální onemocnění → oboustranná akutní nebo subakutní ztráta zraku
- Mutace v mitochondriálních genech → degenerace retinálních gangliových buněk → atrofie zrkového nervu, mutace v genech *MT-MD1* → chybné uspořádání komplexu I respiračního řetězce v mitochondriích → vliv na tvorbu ATP → vznik kyslíkových radikálů
- Příznaky – rychlá nebolestivá ztráta zraku v důsledku poruchy a ztráty RGB → atrofie ZN
- Léčba - Idebenone (Raxone) reaktivuje inaktivní, ale stále životaschopné RGB → návrat zrakových funkcí i více než rok po vzniku onemocnění



# Achromatopsie

- Porucha funkce čípků, výskyt 1 na 30000 obyvatel
- Mutace v genu *CNGB3* příčinou 50% případů → zaplavení čípků kationty → apoptóza čípků, tyčinky nepoškozeny
- Subretinální aplikace AAV vektoru → vpravení genu *CNGB3*
- *Klinické studie fáze I a II*



# Genová terapie v ČR

- Ústav dědičných metabolických poruch
- 1. LF UK a VFN v Praze, Ke Karlovu 455/2, 128 08 Praha 2
- Centrum multidisciplinární péče pro pacienty s mitochondriálními neuropatiemi optiku, cílem je optimalizace diagnostických a terapeutických algoritmů a studium rizikových faktorů rozvoje manifestního onemocnění (spolupráce genetiků, oftalmologů, neurologů)