

Agnieszka Kwiatkowska¹, Magdalena Staniec¹, Agata Rocka¹,
Dominika Psiuk¹, Emilia Nowak¹, Agata Filip²

Otrzymano: 26.03.2021
Zaakceptowano: 13.05.2021
Opublikowano: 31.12.2021

Zastosowanie terapii genowej w leczeniu niedoboru dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych

Gene therapy in the treatment of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency

¹ Studenckie Koło Naukowe Genetyki Nowotworów przy Zakładzie Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska.

Opiekun Koła: prof. dr hab. n. med. Agata Filip

² Zakład Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną, Katedra Genetyki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska

Adres do korespondencji: Agnieszka Kwiatkowska, ul. Radziwiłłowska 11, 20-080 Lublin, e-mail: agnieszka.kwiat166@gmail.com

Streszczenie

Niedobór dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych to autosomalne recesywne zaburzenie neurorozwojowe wywołane przez patogenne warianty genu *DDC*. Choroba ujawnia się w wieku noworodkowo-niemowlęcym. Objawia się dolegliwościami neurologicznymi, znacznym opóźnieniem rozwoju motorycznego i występującymi kryzysami oczno-zakrętowymi. Korzystne efekty w leczeniu tego schorzenia uzyskuje się obecnie dzięki terapii genowej. Jeszcze do niedawna nie była znana żadna skuteczna metoda leczenia niedoboru dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych. Dzieci dotknięte tą chorobą umierają w pierwszych dekadach życia. Terapia genowa stanowi nową, obiecującą strategię terapeutyczną. Pierwsze na świecie zabiegi z jej wykorzystaniem przeprowadzono w Stanach Zjednoczonych. Dzieci poddane takim zabiegom bardzo szybko dochodziły do zdrowia, zaczynały siadać, pionizować się, a nawet podejmowały próby chodzenia. Po raz pierwszy w Europie ta metoda leczenia została zastosowana w 2019 roku w Polsce, w Interwencyjnym Centrum Neuroterapii Szpitala Bródnowskiego w Warszawie, przy zaangażowaniu zespołu prof. Mirosława Ząbka i prof. Krzysztofa Bankiewicza. Terapia polega na wprowadzeniu kopii defektywnego genu bezpośrednio do istoty czarnej i brzusznej części nakrywki śródmózgowia chorego w czasie rzeczywistym pod kontrolą rezonansu magnetycznego. U pierwszych polskich pacjentów leczonych tą innowacyjną metodą widoczne były spektakularne zmiany, w krótkim czasie od zabiegu dzieci zaczęły podnosić głowę. Wczesna trafna diagnoza i szybkie wdrożenie odpowiedniego leczenia mogą zminimalizować niekorzystny wpływ braku neuroprzekaźników u pacjentów pediatrycznych. Może na to pozwolić wdrożenie terapii genowej, będącej szansą dla dzieci cierpiących na rzadkie schorzenie, jakim jest niedobór dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych.

Słowa kluczowe: niedobór dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych, wirus związany z adenowirusami, terapia genowa, AADC, AAV

Abstract

Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency is an autosomal recessive neurodevelopmental disorder caused by pathogenic variants of the *DDC* gene. The disease manifests already in newborns and infants. The presentation includes neurological symptoms, a significant delay in motor development and oculogyric crisis. Currently, gene therapy is successfully used in the treatment of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. Until recently, no effective treatment for the disorder was known. The affected children died in the first decades of life. Gene therapy is a new and promising therapeutic strategy. The first genetic therapies for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency were implemented in the United States. The treated children recovered very quickly, began to sit up, stand, and even attempted to walk. For the first time in Europe, this method was used in 2019 in Poland, at the Interventional NeuroTherapy Centre at Bródno Hospital in Warsaw, with the involvement of a team of specialists under the leadership of Professor Mirosław Ząbek and Professor Krzysztof Bankiewicz. The therapy involves a real-time magnetic resonance imaging-guided introduction of a copy of the defective gene directly into the substantia nigra and the ventral tegmental area. Spectacular changes were observed in the first Polish patients treated with this innovative method. The children began to raise their heads soon after the procedure. Early accurate diagnosis and prompt implementation of appropriate treatment can minimise the consequences of deficient neurotransmitters in paediatric patients. This can be achieved with gene therapy, which is a chance for children affected by this rare disease.

Keywords: aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency, adeno-associated viruses, gene therapy, AADC, AAV

NIEDOBÓR DEKARBOKSYLAZY L-AMINOKWASÓW AROMATYCZNYCH (AADC)

Niedobór dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych (*aromatic L-amino acid decarboxylase*, AADC) to choroba metaboliczna, uwarunkowana genetycznie. Występuje bardzo rzadko, dziedziczny się autosomalnie recesywnie. W wyniku mutacji genu *DDC* (7p12.2-p12.1) chory nie produkuje bardzo ważnych dla życia neuroprzekaźników – dopaminy i serotoniny. Rozpowszechnienie niedoboru AADC wynosi mniej niż 1 przypadek na 1 000 000. Chorobę tę po raz pierwszy opisano w 1990 roku. Do tej pory rozpoznano ją u 130 osób; w Polsce schorzenie zostało potwierdzone u dwojga dzieci. Początek objawów przypada na okres noworodkowo-niemowlęcy. Co zaskakujące, zaraz po urodzeniu dziecko jest w dobrym stanie, wydaje się pozornie zdrowe. Najczęściej jednak już w 1. miesiącu życia pojawiają się pierwsze manifestacje choroby w postaci obniżenia napięcia mięśniowego. Ze względu na ograniczoną pozycję motoryczną chorzy zazwyczaj na stałe przebywają w pozycji leżącej. Występują u nich trudności z oddychaniem, w wyniku czego bardzo często wymagają podłączenia do respiratora. Towarzyszą temu poważne zaburzenia neurologiczne, kryzy oczno-zakrętowe z towarzyszącą dystonią. Dziecko prezentuje objawy wzmoczonego napięcia mięśni, przyjmuje naprężoną, wygiętą postawę ciała. Epizody te powodują duże cierpienie, uniemożliwiają normalne spożywanie posiłków, co przyczynia się do zaburzenia równowagi elektrolitowej organizmu. Po takim ataku dziecko potrzebuje dłuższej regeneracji, podczas której napięcie mięśni stopniowo się normalizuje. Rozwój intelektualny jest zazwyczaj zachowany, występują natomiast trudności z komunikowaniem się z otoczeniem, ze względu na brak wykształcenia mowy czynnej. Diagnozę niedoboru AADC można postawić na podstawie oceny stężenia amin biogennych w płynie mózgowo-rdzeniowym. Aby potwierdzić rozpoznanie, należy przeprowadzić badanie, które obecnie jest dostępne tylko za granicą i polega na oznaczeniu aktywności AADC we krwi, lub wykonać badanie molekularne^(1,2). Schemat leczenia tej choroby jest złożony, obejmuje stosowanie agonistów dopaminy, inhibitorów monoaminooksydazy, fosforanu pirydoksalu (PLP), leków przeciwcholinergicznych i przeciwpadaczkowych oraz wykorzystanie dodatkowych metod terapeutycznych, takich jak fizjoterapia czy terapia logopedyczna⁽³⁾.

MATERIAŁ I METODA

Dokonano przeglądu piśmiennictwa w zakresie zastosowania terapii genowej w leczeniu niedoboru AADC. W tym celu wykorzystano bazę PubMed. Do wyszukiwania artykułów użyto słów kluczowych *gene therapy*, *AADC deficiency* oraz *AAV vector*. Dodatkowo dokonano przeglądu artykułów opublikowanych na stronach internetowych.

TERAPIA GENOWA W LECZENIU NIEDOBORU AADC

W leczeniu niedoboru AADC stosuje się terapię genową wykorzystującą wirus związany z adenowirusami (*adeno-associated*

viruses, AAVs) jako wektor – przenośnik⁽⁴⁾. AAVs należą do rodziny parwowirusów i zbudowane są z jednociowego DNA otoczonego białkami. Ze względu na fakt, że nie mają zdolności samodzielnej replikacji, są zależne od wirusów, którym towarzyszą – najczęściej są to adenowirusy⁽⁵⁾.

W szczepionce wykorzystuje się zrekombinowany wektor AAV (*recombinant adeno-associated virus*, rAAV), pozbawiony wirusowego materiału genetycznego poza odwróconymi powtórzeniami końcowymi (*inverted terminal repeat*, ITR), które odpowiadają za pakowanie genomu wirusa do kapsydu. Zamiast genomu wirusa genom zawiera prawidłowy gen *DDC* otoczony kapsydem wirusowym⁽⁶⁾. Taka budowa umożliwia wektorowi transport i dostarczanie zrekombinowanego materiału genetycznego do jądra komórkowego⁽⁷⁾. Wektor AAV wnika do komórki gospodarza poprzez połączenie się z odpowiednimi receptorami i koreceptorami na jej powierzchni, a następnie ulega endocytozie i wnika do jądra komórkowego przez porę⁽⁷⁾. Obecnie dostępne są jednociowe (*single-stranded*, ss) i dwunociowe (*self-complementary*, sc) formy AAVs. Wektory ssAAVs przenoszą pojedynczą nici DNA, która przed transkrypcją musi ulec przekształceniu do formy dwunociowej; z kolei scAAVs ulegają transkrypcji i translacji tuż po wniesieniu do jądra, ostatecznie tworząc terapeutyczne białko^(8,9). Wektor podawany jest bezpośrednio do istoty czarnej i brzusznej części nakrywki śródmózgowia chorego w czasie rzeczywistym pod kontrolą rezonansu magnetycznego⁽¹⁰⁾.

W zależności od pożądanego efektu wektor można poddać modyfikacjom, zarówno ITR, promotora, jak i kapsydu. Efekt będzie uzależniony również od transgenu⁽¹¹⁾. Do zalet terapii genowej wykorzystującej AAVs należą między innymi zdolność wnikania zarówno do dzielących, jak i niedzielących się komórek różnego rodzaju⁽¹²⁾. Ponadto wektory te nie są patogenne i cechuje je niska immunogenność⁽¹³⁾. Charakteryzuje je także wysoka stabilność ekspresji. Główne ograniczenia ich stosowania to mała pojemność (do 4,7 kb) oraz ryzyko neutralizacji przez endogenne przeciwciała przeciwko AAV⁽¹⁴⁾.

TERAPIA GENOWA NIEDOBORU AADC W LECZENIU CHOROBY PARKINSONA

Choroba Parkinsona (*Parkinson's disease*, PD) jest postępującą chorobą neurodegeneracyjną, do której głównych objawów zaliczamy spowolnienie ruchowe, sztywność, niestabilność postawy oraz drżenie spoczynkowe⁽¹⁵⁾. W PD mamy do czynienia z utratą i degeneracją neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej śródmózgowia i tworzeniem neuronalnych ciał Lewy'ego⁽¹⁶⁾. Leczenie PD polega na stosowaniu preparatów lewodopy, które hamują rozwój choroby⁽¹⁷⁾. Jednak w miarę postępu PD skuteczność terapii lewodopą maleje. Jednym z powodów tej sytuacji jest utrata endogennego enzymu dekarboksylazy L-aminokwasu (AADC) syntetyzującego dopaminę i biorącego udział w przekształcaniu lewodopy w dopaminę⁽¹⁸⁾. Terapia genowa VY-AADC w leczeniu PD została opracowana przez Neurocrine Biosciences i Voyager Therapeutics. W metodzie wykorzystano zmodyfikowany adenowirus, który dostarcza gen *DDC* do komórek mózgowych⁽¹⁹⁾. Gen *AADC* dostarcza informację niezbędną do

wytwarzania AADC⁽²⁰⁾. Skuteczność danej metody ocenia się w wielu badaniach. Badanie kliniczne I fazy wykazało, że pojedyncze podanie VY-AADC było wystarczające dla zwiększenia aktywności enzymu AADC oraz zwiększenia skuteczności lewodopy. Chorzy wykazywali również poprawę funkcji motorycznych⁽²¹⁾.

POLSKA A TERAPIA GENOWA NIEDOBORU AADC

Polska od 2019 roku jest pionierem w Europie w leczeniu niedoboru AADC przy użyciu terapii genowej. Dostępność tego typu leczenia w naszym kraju stanowi ogromny sukces. Jako pierwsi w Polsce zabiegom zostali poddani 8-letnia dziewczynka i 13-letni chłopiec ze zdiagnozowanym deficytem AADC. U dzieci odnotowano pozytywną odpowiedź na wdrożone leczenie, podejmowały próby mówienia, samodzielnie podnosiły głowę i poruszały kończynami, co wcześniej nie było możliwe⁽²²⁾. Prowadzenie terapii genowej w Polsce jest możliwe dzięki zaangażowaniu prof. Krzysztofa Bankiewicza z Uniwersytetu Kalifornijskiego w Stanach Zjednoczonych i prof. Mirosława Ząbka wraz z zespołem ze Szpitala Bródnowskiego w Warszawie. Zastosowanie tej nowoczesnej metody leczenia umożliwiło stworzenie specjalnie dostosowanej sali operacyjnej, co pozwoliło na wykonywanie infuzji domózgowych pod kontrolą rezonansu magnetycznego w czasie rzeczywistym⁽²³⁾.

W Interwencyjnym Centrum Neuroterapii w Klinice Neurochirurgii CMKP Szpitala Bródnowskiego w Warszawie (INC Bródno) pracuje wykwalifikowana kadra specjalistów. INC Bródno jest ośrodkiem siostrzanym Kliniki Neurochirurgii Uniwersytetu Kalifornijskiego w San Francisco. Utworzenie tych ośrodków otworzyło drogę do rozwoju medycyny w zakresie leczenia chorób mózgu. Obecnie w klinikach prowadzone są badania nad wykorzystaniem terapii genowej w leczeniu pacjentów z nowotworami złośliwymi mózgu, PD i innymi chorobami układu nerwowego. Zabiegi wykonywane przy pomocy nowoczesnego specjalistycznego sprzętu składającego się na wyposażenie hybrydowej sali operacyjnej INC Bródno należą do świadczeń gwarantowanych zakontraktowanych w ramach umowy z Narodowym Funduszem Zdrowia^(10,22,23).

WNIOSKI

Niedobór dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych jest schorzeniem bardzo trudnym w leczeniu. U chorych z deficytem AADC stosuje się zazwyczaj fosforan pirydoksalu, inhibitory monoaminoooksydazy i agonistów dopaminy. Dodatkowo zalecane są zabiegi fizjoterapeutyczne i terapia logopedyczna. Z uwagi na oporność objawów leczenie nie zawsze jest skuteczne; jeszcze do niedawna choroba była uważana za nieuleczalną. Współczesny postęp medycyny i zastosowanie terapii genowej stają się nadzieją dla chorych z niedoborem AADC.

Konflikt interesów

Autorki nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Piśmiennictwo

1. Kurzyńska E: Pionierski zabieg terapii genowej w Mazowieckim Szpitalu Bródnowskim. Available from: <https://pulsmedycyny.pl/pionierski-zabieg-terapii-genowej-w-mazowieckim-szpitalu-brodnowskim-961515> [cited 13 March 2021].
2. Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. Available from: <https://omim.org/entry/608643> [cited 13 March 2021].
3. Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=35708&lng=EN.
4. Chien YH, Lee NC, Tseng SH et al.: Efficacy and safety of AAV2 gene therapy in children with aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: an open-label, phase 1/2 trial. *Lancet Child Adolesc Health* 2017; 1: 265–273.
5. Samulski RJ, Muzyczka N: AAV-mediated gene therapy for research and therapeutic purposes. *Annu Rev Virol* 2014; 1: 427–451.
6. Mingozzi F, High KA: Immune responses to AAV vectors: overcoming barriers to successful gene therapy. *Blood* 2013; 122: 23–36.
7. Choi VW, McCarty DM, Samulski RJ: Host cell DNA repair pathways in adeno-associated viral genome processing. *J Virol* 2006; 80: 10346–10356.
8. Li C, Samulski RJ: Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet* 2020; 21: 255–272.
9. Wang D, Tai PWL, Gao G: Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. *Nat Rev Drug Discov* 2019; 18: 358–378.
10. Rewolucyjna operacja w Mazowieckim Szpitalu Bródnowskim! Available from: <http://brodnowski.pl/o-szpitalu/aktualnosci/rewolucyjna-operacja-w-mazowieckim-szpitalu-brodnowskim,301.html> [cited: 20 March 2021].
11. Naso MF, Tomkowicz B, Perry WL 3rd et al.: Adeno-associated virus (AAV) as a vector for gene therapy. *BioDrugs* 2017; 31: 317–334.
12. Robbins PD, Ghivizzani SC: Viral vectors for gene therapy. *Pharmacol Ther* 1998; 80: 35–47.
13. Qu Y, Liu Y, Noor AF et al.: Characteristics and advantages of adeno-associated virus vector-mediated gene therapy for neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res* 2019; 14: 931–938.
14. Advantages and drawbacks of AAV vector-mediated gene transfer. 2018. Available from: <https://www.genemedi.net/i/advantage-drawbacks-aav-vector> [cited: 14 March 2021].
15. Olanow CW, Stern MB, Sethi K: The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease (2009). *Neurology* 2009; 72 (Suppl 4): S1–S136.
16. Beitz JM: Parkinson's disease: a review. *Front Biosci (Schol Ed)* 2014; 6: 65–74.
17. Tambasco N, Romoli M, Calabresi P: Levodopa in Parkinson's disease: current status and future developments. *Curr Neuropharmacol* 2018; 16: 1239–1252.
18. Nutt JG, Curtze C, Hiller A et al.: Aromatic L-amino acid decarboxylase gene therapy enhances levodopa response in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2020; 35: 851–858.
19. Campelo Delgado D: Gene therapy VY-AADC improves motor function in Parkinson's patients, studies show. Available from: <https://parkinsonsnewstoday.com/2020/09/17/vy-aadc-investigational-gene-therapy-improves-motor-function-in-parkinsons/> [cited: 20 March 2021].
20. DDC gene. Available from: <https://medlineplus.gov/genetics/gene/ddc/> [cited: 20 March 2021].
21. Safety Study of AADC Gene Therapy (VY-AADC01) for Parkinson's Disease (AADC). <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01973543?term=Voyager%2C+AADC+gene&rank=1> [cited: 20 March 2021]
22. Rusecka J: Przeprowadzono pierwszą w Polsce skuteczną terapię genową u dzieci chorych na AADC. Available from: <https://biotechnologia.pl/biotechnologia/przeprowadzono-pierwsza-w-polsce-skuteczna-terapię-genowa-u-dzieci-chorych-na-aadc,18821> [cited: 20 March 2021]
23. Interwencyjne Centrum Neuroterapii: Available from: <http://brodnowski.pl/oddzialy/interwencyjne-centrum-neuroterapii> [cited: 20 March 2021].