





# Pokonać pierwsze niepowodzenia

Poważne działania niepożądane, które wystąpiły w początkowych próbach stosowania terapii genowej, położyły się cieniem na jej dalszym rozwoju. Obecnie badacze znajdują sposoby zmniejszenia ryzyka

Tanya Lewis

**AUDREY MIAŁA SZEŚĆ MIESIĘCY**, kiedy jej rodzice po raz pierwszy zauważyli, że coś jest nie tak. Ciało dziewczynki nagle sztywniało, a oczy na wiele godzin uciekały w kąciaki oczodołów. Pomiędzy wizyt u wielu specjalistów nikt nie wiedział, co się dzieje. Lekarze przepisywali leki na drgawki – dużo leków – które wyciszały dziecko, ale nie powstrzymały uciekania gałek ocznych. W końcu przyznano, że nie wiadomo, jak jej pomóc, i odesłano rodziców Audrey do domu z garścią broszur na temat życia z niepełnosprawnością.

Późniejsze badania genetyczne pozwoliły rozpoznać u dziewczynki stan znany jako niedobór dekarboksylazy L-aminokwasów aromatycznych (aromatic L-amino acid decarboxylase, AADC), spowodowany mutacjami w jednym genie. To niezwykle rzadkie zaburzenie objawia się w okresie niemowlęcym i charakteryzuje się obniżeniem aktywności AADC – enzymu, który jest niezbędny do tworzenia substancji chemicznych odpowiadających za przekazywanie sygnałów w mózgu: dopaminy i serotoniny. Powoduje to poważne zaburzenia rozwojowe i motoryczne, a także problemy ze snem i nastrojem. Większość dzieci z tym schorzeniem nie jest w stanie mówić, siedzieć ani utrzymać ciężaru własnego ciała.

Po latach frustracji rodzice Audrey zgłosili ją do badania klinicznego prowadzonego przez Krzysztofa Bankiewicza, profesora neurochirurgii z University of California w San Francisco i Ohio State

University College of Medicine. W testowanej przez Bankiewicza i jego współpracowników terapii genowej wykorzystuje się nieszkodliwego wirusa jako wektor wprowadzający nienaruszoną wersję genu odpowiedzialnego za wytwarzanie enzymu AADC. W badaniu wzięło udział siedmioro dzieci. Badacze wstrzyknęli wirusy bezpośrednio do mózgu każdego dziecka w pobliżu neuronów, które, jak mieli nadzieję, miały zacząć wytwarzać AADC, a następnie dopaminę.

W chwili rozpoczęcia badania dzieci miały od czterech do dziewięciu lat (Audrey sześć). Wyniki były szokujące: po trzech miesiącach od operacji u sześciorga na siedmioro dzieci przestały pojawiać się kryzy oczno-zakrętowe – rotacje gałek ocznych, które są znakiem rozpoznawczym choroby. U siódmego dziecka również początkowo nastąpiła poprawa, ale zmarło siedem miesięcy później z powodu powikłań samej cho-

roby, mówi Bankiewicz. W rok po operacji cała szóstka dzieci, które przeżyły, panowała nad ruchami głowy, a czworo samodzielnie siedziało. Po półtora roku Audrey i jeszcze jedno dziecko chodziły trzymane za ręce i uczyły się używać mięśni, których wcześniej nie były w stanie kontrolować. Do tej pory u żadnego z małych pacjentów nie wystąpiły jakiegokolwiek poważne.

Wyniki, jakie uzyskano u Audrey, nie byłyby możliwe bez dziesięcioleci badań i prób z udziałem pacjentów, którzy zgłosili się do eksperymentalnych terapii, mając świadomość, że ryzykują życiem, chcąc jednak pomóc w rozwoju tej dziedziny. Poważne działania niepożądane, nawet zgony, w początkowych latach, mogące zastopować postęp terapii genowej, skłoniły badaczy do ponownego przeanalizowania stosowanych terapii. Przekonani o potencjale leczenia genetycznego i możliwości znalezienia bezpieczniejszych, precyzyjniejszych metod dostarczania genów, wytrwali.

Od tego czasu terapia genowa odniosła kilka znaczących sukcesów [patrz „Historie sukcesu” s. 42]. Jednak kwestia działań niepożądanych z pewnością nie jest jeszcze zamknięta. Jak w każdej pionierskiej dziedzinie nauk medycznych, badacze muszą zachować równowagę między postępowaniem w wiedzy, która może pomóc w terapii wyniszczających chorób, a ostrożnością w celu ochrony pacjentów.

## PO PIERWSZE, NIE SZKODZIĆ

JESSE GELSINGER MIAŁ 18 LAT, kiedy w 1999 roku dołączył do jednego z pierwszych badań klinicznych terapii genowej [patrz „Naprawianie genów”, s. 33]. Cierpiał na dziedziczną chorobę genetyczną zwaną niedoborem transkarbamylazy ornitynowej (ornithine transcarbamylase, OTC), powodującą gromadzenie się we krwi toksycznych ilości amoniaku. Nielezione schorzenie może prowadzić do wymiotów, senności, a w ciężkich przypadkach do śmierci. Choroba dotyka do jednego na 50 tys. niemowląt i jest spowodowana mutacjami w genie *OTC*. Standardowe leczenie polega na ograniczeniach dietetycznych i suplementacji (metoda alternatywnych szlaków). Gelsinger był leczony i cierpiał na łagodną formę choroby, ale od czasu do czasu doświadczał hiperamonemii; raz nawet zapadł w śpiączkę.

W badaniu, w którym wziął udział, wykorzystano pewne wirusy wywołujące przeziębienie, tzw. adenowirusy, zmodyfikowane tak, aby dostarczały działającą wersję genu *OTC* do komórek wątroby. Gelsinger był jednym z dwóch uczestników otrzymujących najwyższą dawkę. W ciągu kilku dni od zabiegu jego stan gwałtownie się pogorszył – wystąpiła gwałtowna reakcja zapalna, która doprowadziła do niewydolności narządów, a w końcu do śmierci mózgu. Kilka lat później u kilkorga dzieci, u których zastosowano terapię genową w związku z ciężką chorobą immunologiczną, rozwinęły się nowotwory.

Źródła finansowania wyschły, a wielu badaczy porzuciło tę dziedzinę. Ci, którzy wytrwali, zaczęli wprowadzać ulepszenia zarówno w zakresie bezpieczeństwa, jak i skuteczności wektorów wirusowych. Zaczęli również badać metodę edycji genów zwaną CRISPR, która umożliwiała bardziej ukierunkowane terapie, ale wiązała się z nowymi zagrożeniami.

Od śmierci Gelsingera terapia genowa przeszła długą drogę – Audrey jest tego żywym dowodem. Jednak badacze pozostają czujni. „Jesteśmy teraz w zupełnie innym miejscu – mówi Mark Batshaw, lekarz, który ponad 20 lat temu uczestniczył w badaniu z udziałem Gelsingera. – Wiemy dużo więcej na temat wektorów, a także związanej z nimi odpowiedzi immunologicznej. Jesteśmy też dużo ostrożniejsi”.

Po śmierci Gelsingera FDA zabroniła Jamesowi Wilsonowi, badaczowi, w którego laboratorium opracowano terapię zastosowaną u Gelsingera, oraz instytucji, w której pracował, Institute for Human Gene Therapy na University of Pennsylvania, prowadzenia badań z udziałem ludzi przez co najmniej pięć lat. W komunikacie wskazano na powtarzające się i umyślne naruszenia protokołu badań nad lekiem. Agencja wstrzymała także wszystkie badania prowadzone w instytucji, w którym pracował Wilson.

Jednak nie był to koniec ani terapii genowej, ani kariery Wilsona. „Nastąpił gwałtowny spadek entuzjazmu” – mówi Wilson. Mimo to „było kilka osób, które kontynuowały prace nad terapią genową. Wycofaliśmy się z zastosowań klinicznych, przechodząc do nauk podstawowych i badań nad dostarczaniem genów”. Wilson i jego koledzy wrócili do badań laboratoryjnych, aby zrozumieć, dlaczego doszło do śmierci Gelsingera. Najbardziej prawdopodobna hipoteza mówiła, że

miał on przeciwciała przeciwko adenowirusowi z powodu wcześniejszej ekspozycji na wirusa i że te pozostałości po dawnej infekcji zwielokrotniły odpowiedź jego układu odpornościowego na wektor adenowirusowy.

Wilson i inni badacze przyrzekli się uważnie kwestii działań niepożądanych. Ponieważ największym zagrożeniem wydawał się wektor wirusowy, przedstawiono się na wirusy związane z adenowirusami (adeno-associated viruses, AAV), które okazały się znacznie bezpieczniejsze. Obecnie wirusy AAV są wykorzystywane w wielu terapiach, w tym w zatwierdzonym leku na rdzeniowy zanik mięśni. „Cieszę się, że wytrwaliśmy” – mówi Wilson.

### NAUKA NA BŁĘDACH

MNIEJ WIĘCEJ W TYM SAMYM CZASIE, kiedy trwało badanie, w którym wziął udział Gelsinger, naukowcy z Francji i Anglii pracowali nad metodą leczenia ciężkiego złożonego niedoboru odporności (severe combined immunodeficiency, SCID), choroby genetycznej, która dotyka co najmniej jedno na 50 tys. dzieci. Czasami określa się ją mianem „choroby chłopca z bańki”, ponieważ osoby nią dotknięte, głównie chłopcy, rodzą się bez układu odpornościowego i aby nie zachorować, muszą żyć w odizolowanym, sterylnym środowisku. Można ją wyleczyć przez przeszczep szpiku kostnego od pasującego dawcy, ale tylko dla co czwartego dziecka dotkniętego tą chorobą udaje się go znaleźć. Bez leczenia dzieci ze SCID zazwyczaj umierają w ciągu pierwszego roku życia.

Jako wektor badacze wybrali tzw. gammaretrowirusy, ponieważ uważali, że są one skuteczne w dostarczaniu materiału genetycznego do komórek. W dwóch badaniach klinicznych skupili się na formie SCID, która jest przekazywana z matki na dziecko w chromosomie X, znanej jako SCID-X1. Jest ona spowodowana błędami w genie, który koduje białko o nazwie IL2RG. W obu badaniach pobrano komórki macierzyste ze szpiku kostnego pacjentów. Badacze użyli wektora gammaretrowirusowego, aby wprowadzić do nich działającą kopię genu *IL2RG*, a następnie podali zmodyfikowane komórki pacjentom. Początkowo terapia wydawała się dość skuteczna: większość z 10 dzieci, które poddano leczeniu, zaczęła wytwarzać funkcjonalne limfocyty T – ważny element sprawnie działającego układu odpornościowego. Jednak w ciągu trzech do sześciu lat u połowy badanych rozwinęła się białaczka, a jeden

zmarł. Uważa się, że wektory wirusowe aktywowały znany gen powodujący raka. FDA wstrzymała wszystkie prowadzone w USA badania z wykorzystaniem wektora retrowirusowego, ukierunkowane na modyfikowanie komórek macierzystych w szpiku kostnym.

„Nasza wiedza pochodziła z modeli zwierzęcych” – mówi Marina Cavazzana, pediatra i hematolog z Hôpital Necker przy Université Paris Descartes, która napisała protokół kliniczny i zajmowała się obserwacją pacjentów w ramach badania klinicznego we Francji. Problem, jak mówi, polega na tym, że na podstawie modeli zwierzęcych nie dało się przewidzieć toksyczności u ludzi. „Przerwałam badanie, wznowiliśmy prace w laboratorium i spróbowaliśmy wyjaśnić przyczynę działań niepożądanych. A potem wróciliśmy do kliniki” – mówi.

David Williams, kierownik oddziału hematologii i onkologii w Boston Children's Hospital, był zaangażowany w te wczesne badania nad SCID. „Prędzej czy później – mówi, odnosząc się zarówno do badania nad SCID, jak i badania, w którym wziął udział Gelsinger – trzeba wypróbować te metody u ludzi, aby móc w pełni porównać korzyści z ryzykiem”.

Kiedy dekadę później Williams i jego współpracownicy ponownie podjęli prace nad SCID, stworzyli zmodyfikowaną wersję swojego gammaretrowirusa, aby uniknąć aktywacji onkogenów wywołujących raka. Nadal jednak powodowała ona rozwój tylko jednego typu komórek odpornościowych, a biorcy wymagali ciągłych zastrzyków dożylnych, aby utrzymać ich produkcję. Ale prawie dekadę później u żadnego z badanych pacjentów nie wystąpiła białaczka ani inne powikłania.

Był to kolejny wektor wirusowy, który pomógł posunąć naprzód próby pokonania SCID. W 2016 roku zespół kierowany przez Ewelinę Mamcarz, specjalistkę od przeszczepów szpiku kostnego z St. Jude Children's Research Hospital w Memphis, rozpoczął badania nad SCID-X1 z wykorzystaniem jako wektora lentiwirusa (wirusa spokrewnionego z HIV). Naukowcy wbudowali w niego „zapórę ogniową”, która miała zapobiegać aktywacji części genomu mogących powodować białaczkę. Mamcarz i jej współpracownicy poddali również wcześniejszym pacjentów chemioterapii, aby zrobić miejsce dla zmodyfikowanych komórek macierzystych szpiku kostnego.

W sumie zespół Mamcarz zastosował tę terapię genową u 18 niemowląt.



Audrey ze swoją mamą Carrie po trzech latach od przeprowadzonej z powodzeniem terapii genowej.



Uplłynęło już około pięciu lat od leczenia i u żadnego z dzieci nie rozwinęła się białaczka. „Mamy nadzieję, że wychodzimy na prostą, ale nadal będziemy ściśle monitorować pacjentów” – mówi Mamcarz. „Mój niepokój był znacznie większy wtedy, kiedy zaczynaliśmy [badanie], ponieważ było mnóstwo niewiadomych. Myślę, że teraz, kiedy minęło już tyle lat, mogę spać spokojnie, nigdy jednak nie spoczywamy na laurach” – dodaje.

Obawy o działania niepożądane terapii genowej były również przedmiotem zainteresowania naukowców pracujących nad innymi schorzeniami. Niedokrwistość sierpowatokrwinkowa, która każdego roku dotyka około 300 tys. noworodków, częściej pochodzenia afrykańskiego, od dawna była celem terapii genowej, ponieważ ona również jest spowodowana defektem jednego genu. Choroba ta powoduje, że czerwone krwinki przybierają kształt sierpa i zlepiają się, przez co nie są w stanie wydajnie transportować tlenu. Pacjenci doświadczają m.in. wyniszczających kryzysów bólowych i udarów, a sama choroba może być śmiertelna. Wprawdzie można ją leczyć, jednak wyleczenie daje się osiągnąć tylko poprzez ryzykowny przeszczep szpiku kostnego lub komórek macierzystych.

FDA wstrzymała badanie kliniczne prowadzone przez Bluebird Bio, jak również kilka podobnych badań, podczas gdy firma analizowała te przypadki. Analiza wykazała, że istniało niskie prawdopodobieństwo związku między białaczką a terapią genową. Rich Colvin, dyrektor medyczny Bluebird Bio, podał, że w jednym z przypadków wektor wirusowy nie został wykryty w komórkach nowotworowych, a w drugim wirusowe DNA było obecne, ale nie zintegrowało się z żadnym genem zaangażowanym w rozwój białaczki. W czerwcu 2021 roku FDA zniosła zakaz i badania wznowiono.

Bluebird Bio testuje również terapię genową dla pacjentów z adrenoleukodystrofią sprzężoną z chromosomem X (ALD), wyniszczającą chorobą, która dotyka głównie chłopców i daje im jedynie 5–10 lat życia. W tym badaniu u jednego z 67 pacjentów rozwinął się zespół mielodysplastyczny – stan, który może prowadzić do białaczki – i tym razem okazało się, że był on związany z wektorem wirusowym. FDA wstrzymała teraz to badanie. Colvin twierdzi, że korzyści płynące z terapii nadal przewyższają ryzyko wystąpienia ALD, która jest chorobą śmiertelną. Jednak wie, że to delikatna kwe-

stia: „Myślę, że trzeba mieć dużo pokory, kiedy manipuluje się ludzkim genomem”.

### RYZYKO VERSUS KORZYŚCI

WEKTORY WIRUSOWE, z samej swojej natury, mogą wbudowywać się w niepożądane obszary genomu komórki docelowej. Jednak nowsze techniki umożliwiają znacznie precyzyjniejsze zmiany w genach. W niektórych terapiach genowych jest już wykorzystywana technika CRISPR. Chociaż istnieje potencjalne ryzyko wystąpienia tzw. efektów off-target w innych częściach genomu, nie zaobserwowano ich we wczesnych badaniach klinicznych.

W badaniu sponsorowanym przez CRISPR Therapeutics z Cambridge (Massachusetts) oraz Vertex Pharmaceuticals z Bostonu, w którym zastosowano terapię genową CRISPR, u dwojga pacjentów z niedokrwistością sierpowatokrwinkową i 20 z pokrewną chorobą zwaną beta-talosemią stwierdzono według niepublikowanych danych niemal całkowite ustąpienie objawów. Mimo że potrzebna jest dłuższa obserwacja, David Altshuler, dyrektor medyczny Vertex Pharmaceuticals, nazywa te wyniki „kamieniem milowym”.

W przypadku każdej nowej terapii ryzyko wystąpienia działań niepożądanych musi być rozpatrywane w kontekście leczonych chorób. Choroba taka, jak niedobór AADC, może być śmiertelna i matka Audrey wiedziała o tym, kiedy zapisywała córkę do badania klinicznego na UCSF. Była zdesperowana i uznała, że każda poprawa będzie lepsza niż status quo. Trzy lata po zgłoszeniu Audrey do udziału w badaniu Carrie mówi, że córka jest „zupełnie innym dzieckiem”. Nie występuje już u niej rotacja gałek ocznych. Audrey uczy się jeść, wymawia kilka słów. Dzięki aparatowi z panelem dotykowym, który pozwala aktywować wypowiedziane przez komputer frazy – może się porozumiewać. Przed leczeniem rozumiała, co mówią inni, ale sama nie mogła się wypowiedzieć. „Teraz po prostu mówi, co myśli”.

Audrey wciąż ma problemy m.in. z utrzymaniem równowagi i z mową. Jednak jej życie wygląda dziś zupełnie inaczej, niż wyglądałoby bez leczenia. A ten sukces terapii genowej może, zdaniem Carrie, dać nadzieję innym rodzinom. „Jeśli nic nie zrobimy, wiemy, co nas czeka – mówi. – Jeśli zrobimy cokolwiek, choćby coś małego, to już zwycięstwo”.

.....  
Tanya Lewis jest starszym redaktorem „Scientific American” w zakresie zdrowia i medycyny.

Artykuły opracowane  
niezależnie przez redaktorów  
„Scientific American”  
przy wsparciu firmy



*RAPORT SPECJALNY*

**SCIENTIFIC  
AMERICAN**

**nature**

[ScientificAmerican.com/InnovationsIn/gene-therapy](http://ScientificAmerican.com/InnovationsIn/gene-therapy)