



Εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας στην Δυστροφική Πομφολυγώδη Επιδερμόλυση - Σύντομη ανασκόπηση

Φλωρεντίνα-Σύλβια Δελλή¹, Δήμητρα Κυρίτσι², Έλενα Σωτηρίου²

¹Δερματολόγος-Αφροδισιολόγος, MD, PhD, Επιμελήτρια Α' Ν.Δ.Α.Ν.Θ.- Γ.Ν.Θ. Ιπποκράτειο

²Α' Δερματολογική Κλινική Α.Π.Θ., Ν.Δ.Α.Ν.Θ.- Γ.Ν.Θ. Ιπποκράτειο

Genetic therapy for Dystrophic Epidermolysis Bullosa – a short review

Florentina-Silvia Delli¹, Dimitra Kyritsi², Elena Sotiriou²

¹State Hospital for Skin and Venereal Diseases Thessaloniki – Hippokratia General Hospital

²Aristotle University, First Department of Dermatology and Venereology, School of Medicine, Thessaloniki, Greece

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η γονιδιακή θεραπεία αφορά την τεχνική με την οποία τροποποιείται ένα γονίδιο προκειμένου να θεραπευθεί, να προληφθεί ή να ιαθεί ένα γονιδιακό νόσημα. Οι γενοδερματοπάθειες είναι σπάνια γονιδιακά νοσήματα με εκδηλώσεις στο δέρμα. Καθώς εμφανίζονται από τη γέννα ή στο αμέσως μετά χρονικό διάστημα, έχουν γενικά χρόνια και δυσμενή εξέλιξη, ενώ οι επιπλοκές μπορεί να είναι απειλητικές για τη ζωή του ασθενή. Η δυστροφική πομφολυγώδης επιδερμόλυση είναι ένα γονιδιακό πομφολυγώδες νόσημα. Η κλινική εικόνα διαφέρει σε κάθε περιστατικό και μπορεί να είναι ήπια ως πολύ σοβαρή. Η θεραπευτική φαρέτρα περιορίζεται στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων και των επιπλοκών. Η ex vivo αυτόλογη γονιδιακή τροποποίηση φαίνεται να είναι μια πολλά υποσχόμενη μελλοντική επιλογή, η οποία έχει ήδη λάβει έγκριση από τον FDA και αναμένεται έγκριση από τον EMA. Η χρήση βλαστοκυττάρων βρίσκεται σε επίπεδο κλινικής μελέτης.

ΛΕΞΕΙΣ-ΚΛΕΙΔΙΑ: Δυστροφική πομφολυγώδης επιδερμόλυση, γονιδιακή θεραπεία

ABSTRACT

Gene therapy is a technique that uses a gene to treat, prevent or cure a disease or medical disorder. Genodermatoses are rare. As they frequently occur at birth or early in life, they are generally chronic, and can be serious and life-threatening. Dystrophic epidermolysis bullosa is a rare genetic blistering skin disease. The clinical presentation varies from case to case, it might be mild or very severe. The treatment is limited to management of symptoms and complications. Ex vivo autologous gene modification seems to be a promising future choice, which is already approved by the FDA and approval is currently awaited by the EMA. The use of stem cells is used in clinical trials.

KEYWORDS: Dystrophic epidermolysis bullosa, genetic therapy



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πάνω από 60 χρόνια μετά τις πρώτες διστακτικές προσπάθειες, η γονιδιακή θεραπεία αναδεικνύεται πλέον ως θεραπευτική επιλογή για ένα μικρό, αλλά συνεχώς αυξανόμενο αριθμό νοσημάτων. Η θεραπευτική αυτή προσέγγιση είχε αντιμετωπιστεί με σκεπτικισμό όταν διατυπώθηκε για πρώτη φορά τη δεκαετία του 1970. Σήμερα, έχουμε διαθέσιμες αρκετές μεθόδους για να διορθώσουμε ή να επηρεάσουμε τη λειτουργία ενός γονιδίου. Ανάλογα με το κύτταρο στόχο, η γονιδιακή θεραπεία ταξινομείται σε σωματική και των βλαστοκυττάρων. Η έρευνα επικεντρώνεται κυρίως στην σωματική γονιδιακή θεραπεία. Ο στόχος είναι η ίαση ποικίλων νοσημάτων, από διάφορους τύπους καρκίνων (μηνιγγιώματα, του γαστρεντερικού, του μαστού), έως πολύ μελετημένες γονιδιακές ασθένειες (θαλασσαιμία, βαριές σύνθετες ανοσοανεπάρκειες), αλλά και λοιμώδη νοσήματα (HIV, ηπατίτιδες), ακόμα και καρδιαγγειακές παθήσεις (ισχαιμία, στεφανιαία νόσος)¹. Η πιο πρόσφατη, καινοτόμος μέθοδος, με εφαρμογή στην γονιδιακή θεραπεία, είναι τα μοριακά εργαλεία, όπως το CRISPR-CAS9. Είναι τεχνολογία ταχείας επεξεργασίας γονιδιώματος, η οποία διορθώνει τα λάθη που βρίσκονται μέσα στο γονίδιο. Η αντικατάσταση, αποσιώπηση και εισαγωγή ενός ολόκληρου γονιδίου, αποτελεί σήμερα κατά κάποιον τρόπο τη συμβατική γονιδιακή θεραπεία μετά από την καθιέρωση της τεχνικής CRISPR².

Οι γονιδιακές θεραπείες που χρησιμοποιούνται σήμερα βασίζονται σε δύο προσεγγίσεις. Η πρώτη (και συχνότερη) περιλαμβάνει τη λήψη αίματος από έναν ασθενή, ακολούθως την τροποποίηση συγκεκριμένων κυττάρων στο εργαστήριο και έπειτα την χορήγησή τους στον ίδιο ασθενή. Η δεύτερη συμπεριλαμβάνει την απευθείας χορήγηση του προϊόντος της γονιδιακής θεραπείας στον οργανισμό, συνήθως από περιοχές στις οποίες υπάρχει εύκολη πρόσβαση, όπως το δέρμα.

ΓΙΑΤΙ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΔΕΡΜΑ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟ ΟΡΓΑΝΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΘΕΡΑΠΕΙΩΝ;

Το γεγονός ότι είναι ένα ορατό όργανο, με άμεση πρόσβαση, κάνει το δέρμα κατάλληλο για τη χρήση της γονιδιακής θεραπείας³. Το πλούσιο αγγειακό σύστημα που διαθέτει ο υποδόριος ιστός, καθώς και η ικανότητά του να συνθέτει και να εκκρίνει πληθώρα πρωτεϊνών, όπως και η δυνατότητα αύξησης της παραγωγής μιας πρωτεΐνης μετά από καθοδηγημένη μεταγραφή⁴,

κάνουν το κερατινοκύτταρο κατάλληλο στόχο της εφαρμογής της γονιδιακής θεραπείας. Η απομόνωση των κυττάρων που περιέχει η επιδερμίδα θεωρείται σχετικά εύκολη, λόγω της άμεσης πρόσβασης, παραμένει όμως μια εξαιρετικά κοστοβόρα υπόθεση που μπορεί να γίνει μόνο σε εξειδικευμένα εργαστήρια. Μπορεί να αποτελέσει «αντικείμενο» και για την *in vivo* πειραματική γονιδιακή μεταφορά, αλλά και εν συνεχεία για την παρακολούθηση των επιπτώσεων του τροποποιημένου ιστού.

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΗΝ ΔΕΡΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

Θεωρητικά, όλα τα άνω αναφερόμενα καθιστούν το δέρμα προνομιούχο όργανο για την αξιοποίηση της μεταφοράς γονιδίων με σκοπό τη θεραπεία ποικίλων δερματικών ασθενειών, κυρίως αυτοσωμικών υπολειπόμενων μονογονιδιακών νοσημάτων, αλλά και σε παθολογικές καταστάσεις που καθορίζονται γονιδιακά, όπως καρκίνοι του δέρματος, επούλωση τραυμάτων, φλεγμονώδη νοσήματα⁵. Πάραυτα, η γονιδιακή θεραπεία παραμένει στην κατηγορία πειραματικών επιλογών, χωρίς άμεση εφαρμογή στην καθημερινή κλινική πράξη. Η έρευνα συνεχίζεται για μονογονιδιακές και πολυγονιδιακές δερματοπάθειες, όπως οι συγγενείς πομφολυγώδεις δερματοπάθειες, το σύνδρομο Netherton, το σύνδρομο Sjogren-Larsson, η μελαγχρωματική ξηροδερμία, ιχθύαση και πορφυρία, αλλά και το μελάνωμα και το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα.

Η ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΔΥΣΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΟΜΦΟΛΥΓΩΔΟΥΣ ΕΠΙΔΕΡΜΟΛΥΣΗΣ (ΔΠΕ)

Η δυστροφική πομφολυγώδης επιδερμόλυση (ΔΠΕ) είναι ένα σπάνιο μονογονιδιακό νόσημα, το οποίο οφείλεται στην έλλειψη κολλαγόνου VII και χαρακτηρίζεται από την δημιουργία πομφολύγων στα σημεία ελάσσονα τραυματισμού. Η υπολειπόμενη μορφή συνήθως συνοδεύεται από σοβαρές επιπλοκές. Με την πάροδο του χρόνου, μετά από τα επανωτά επεισόδια που επουλώνονται με ίνωση, οι περιοχές μπορεί να επιμολυνθούν και ενίοτε εξελίσσονται σε σήψη ή να παραμορφωθούν με την επακόλουθη δημιουργία συνδακτυλιών. Στην πορεία η νόσος μπορεί να επιπλακεί με τη δημιουργία ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων με ιδιαίτερα επιθετική συμπεριφορά. Ενώ δεν υπάρχουν εγκεκριμένες διορθωτικές θεραπείες, η μεταμόσχευση μυελού σε μια μικρή ομάδα ασθενών συνδυάστηκε με 30% θνησιμότητα⁶. Έχει επίσης διερευνηθεί

η μεταμόσχευση ή έγχυση *ex vivo* τροποποιημένων κερατινοκυττάρων ή ινοβλαστών⁷. Εντούτοις, ο κίνδυνος εισαγωγής ογκογονιδίου μέσω ρετροϊού⁸ και η μακροχρόνια μοριακή σταθερότητα ακόμα προκαλούν ανησυχία^{7,9}.

Το 2022 δημοσιεύθηκαν τα πρώτα αποτελέσματα της κλινικής μελέτης φάσης 3 που αφορά τη θεραπεία της ΔΠΕ σε ασθενείς ηλικίας άνω των 6 μηνών, με την τοπική εφαρμογή ενός μη αναπαραγώμενου φορέα απλού έρπητα τύπου 1 (HSV-1), ο οποίος φέρει στο γονιδίωμα του κολλαγόνου VII (*COL7A1*), με στόχο την αποκατάσταση της πρωτεΐνης σε έλλειψη¹⁰. Η θεραπεία βασίζεται σε τροποποιημένο HSV-1 φορέα με ελαττωματική αντιγραφή, η οποία επιτρέπει την διανομή του *COL7A1* στον πυρήνα του κυττάρου του ξενιστή χωρίς την ενσωμάτωσή του στο DNA, έχει τροπισμό για το δέρμα και την ικανότητα υπεκφυγής του ανοσοποιητικού συστήματος, γεγονός που επιτρέπει την χορήγηση επαναληπτικής δόσης.

Οι *in vivo* προκλήσεις της γονιδιακής θεραπείας για την ΔΠΕ συμπεριλαμβάνουν τη δυσκολία επίτευξης αποτελεσματικής διαδερμικής γονιδιακής μεταφοράς (άρα η θεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο σε πληγές), το μεγάλο μέγεθος (~ 9 kb) του ιού φορέα που προκύπτει μετά από την ενσωμάτωση του γονιδίου *COL7A1*, και οι περιορισμοί που σχετίζονται με την επαναχορήγηση των ιικών φορέων (π.χ. ανάπτυξη αντισωμάτων ή αυτοανοσίας)^{11,12}.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Οι γονιδιακές θεραπείες ερευνώνται από τον φαρμακευτικό κλάδο από τη δεκαετία του 1990. Ωστόσο,

μόλις το 2012 εγκρίθηκε η πρώτη από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων και σήμερα στην αγορά της ΕΕ έχουν εγκριθεί συνολικά 18, αλλά δεν είναι ακόμη διαθέσιμες όλες. Τον Μάιο του 2023 υπήρχαν μόνο 15, μετά από τρεις ανακλήσεις των αδειών, καθώς οι εταιρείες δεν θεώρησαν κερδοφόρα την εμπορία του προϊόντος τους. Ένα από τα εργαλεία που θα μπορούσε να χρησιμοποιήσει η ΕΕ για να εναρμονίσει το περιβάλλον των γονιδιακών θεραπειών στα κράτη μέλη είναι το νέο κανονιστικό πλαίσιο για τις αξιολογήσεις τεχνολογιών υγείας (Health Technology Assessments- HTA). Η νομοθεσία που εγκρίθηκε το 2021, θα τεθεί σε ισχύ το 2025, όταν όλες οι κυτταρικές και γονιδιακές θεραπείες, μεταξύ άλλων, θα υποβάλλονται σε ενιαία αξιολόγηση στην ΕΕ αντί των 27 που ισχύουν σήμερα για κάθε χώρα. Ο κανονισμός HTA θα βοηθήσει τις χώρες της ΕΕ να προσδιορίσουν την αποτελεσματικότητα και την αξία των νέων τεχνολογιών και να αποφασίσουν για την τιμολόγηση και την αποζημίωση των ασθενών από τους ασφαλιστές υγείας ή τα συστήματα υγείας.

Η πολλά υποσχόμενη επαναστατική ιατρική που απομυθοποιεί το γονιδίωμα έχει μαγέψει γενιές επιστημόνων και ερευνητών. Στις τελευταίες δεκαετίες μοντέρνες τεχνικές χρησιμοποιούνται σε κλινική κλίμακα. Νέα ηθικά διλήμματα γεννιούνται καθώς η γενετική πληροφορία ενός ασθενή μπορεί να επηρεάσει αποφάσεις των συγγενών τους. Οι Δερματολόγοι θα πρέπει να επεκτείνουν τον ρόλο τους στο να βοηθήσουν τους ασθενείς να καταλάβουν και να μοιραστούν σωστά τις πληροφορίες. Αυτός ο καινούριος ρόλος απαιτεί από τον Δερματολόγο να επεκτείνει τις γνώσεις του στην Γενετική Ιατρική και, κατ' επέκταση, τα ηθικά ερωτήματα που προκύπτουν¹³.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alhakamy NA, Curiel DT, Berkland CJ. The era of gene therapy: From preclinical development to clinical application. *Drug Discov Today*. 2021 Jul;26(7):1602-1619. doi: 10.1016/j.drudis.2021.03.021. Epub 2021 Mar 27. PMID: 33781953
- Landhuis E. The Definition of Gene Therapy Has Changed. *Nature*. 2021 Oct 26. doi: 10.1038/d41586-021-02736-8. Epub ahead of print. PMID: 34703017
- Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: The formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*. 1975;6:331-43
- Cao T, Wang XJ, Roop DR. Regulated cutaneous gene delivery: The skin as a bioreactor. *Hum Gene Ther*. 2000;11:2297-300
- Greenhalgh DA, Rothnagel JA, Roop DR. Epidermis: An attractive target for gene therapy. *J Invest Dermatol*. 1994;103:63S-9S.
- Wagner JE, Ishida-Yamamoto A, McGrath JA, Hordinsky M, Keene DR, Woodley DT, Chen M, Riddle MJ, Osborn MJ, Lund T, Dolan M, Blazar BR, Tolar J. Bone marrow transplantation for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *N Engl J Med*. 2010 Aug 12;363(7):629-39. doi: 10.1056/NEJMoa0910501. Erratum in: *N Engl J Med*. 2010 Sep 30;363(14):1383. Woodley, David T [added]; Chen, Mei [added]. PMID: 20818854; PMCID: PMC2967187
- Lwin SM, Syed F, Di WL, et al. Safety and early efficacy outcomes for lentivirus fibroblast gene therapy in recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *JCI Insight* 2019;4(11):e126243
- Knight S, Collins M, Takeuchi Y. Insertional mutagenesis by retroviral vectors: current concepts and methods of analysis. *Curr Gene Ther* 2013;13:211-27. Gene therapy needs long-term approach. *Nat Med* 2021;27:563
- Eichstandt S, Barriga M, Ponakala A, et al. Phase 1/2a clinical trial of gene-corrected autologous cell therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *JCI Insight* 2019;4(19):e130554



10. Guide SV, Gonzalez ME, Bağcı IS, Agostini B, Chen H, Feeney G, Steimer M, Kapadia B, Sridhar K, Quesada Sanchez L, Gonzalez F, Van Ligten M, Parry TJ, Chitra S, Kammerman LA, Krishnan S, Marinkovich MP. Trial of Beremagene Geperpavec (B-VEC) for Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *N Engl J Med.* 2022 Dec 15;387(24):2211-2219. doi: 10.1056/NEJMoa2206663. PMID: 36516090.
11. Verdera HC, Kurada K, Mingozi F. AAV vector immunogenicity in humans: a long journey to successful gene transfer. *Mol Ther* 2020;28:723-46. Shirley JL, de Jong YP, Terhorst C, Herzog RW. Immune responses to viral gene therapy vectors. *Mol Ther* 2020;28:709-22
12. Hamilton BA, Wright JF. Challenges posed by immune responses to AAV vectors: addressing root causes. *Front Immunol* 2021;12:675897
13. *Dermatoethics: Contemporary Ethics and Professionalism in Dermatology*, 2021, 2nd Edition. Lionel Bercovitch, Clifford S.Perlis, Benjamin K.Stoff, Jane M.Grant-Kels.

Συγγραφέας Αλληλογραφίας

Φ. Σ. Δελλή

Δερματολόγος-Αφροδισιολόγος, MD, PhD, Επιμελήτρια Α'
Νοσοκομείο Αφροδισίων και Δερματικών Νόσων Θεσσαλονίκης
– Γ.Ν.Θ. Ιπποκράτειο
Δελφών 124, ΤΚ 546 43
Τηλ. 2313 308875