



# Prikaz primera prvega uspešnega genskega zdravljenja slovenskega bolnika z mukopolisaharidozo tipa I v tujini

Gene therapy in a child with mucopolysaccharidosis type I - Case report of the first successful gene treatment of a Slovenian patient abroad

Tadej Jalšovec,<sup>1,2</sup> Benjamin Lah,<sup>2,3</sup> Maria Ester Bernardo,<sup>4</sup> Ana Drole Torkar,<sup>2,5</sup> Jana Kodrič,<sup>6</sup> Mojca Žerjav Tanšek,<sup>2,5</sup> Simona Lucija Avčin,<sup>5,7</sup> Alessandro Aiuti,<sup>4</sup> Tadej Battelino,<sup>2,5</sup> Urh Grošelj<sup>2,5</sup>

## Izvleček

Mukopolisaharidoze so skupina lizosomskih bolezní kopičenja. Njihova skupna značilnost je pomanjkanje delovanja encimov, ki razgrajujejo glikozaminoglikane, polisaharide, ki se povezujejo s proteoglikani in tvorijo zunajcelični matriks. Ker ni encimov, ki bi glikozaminoglikane razgrajevali, se ti kopičijo v lizosomih in povzročijo njihovo okvaro in zato se okvarijo drugi celični organeli, celice in končno organi. Klinična slika je široka, od nevro-kognitivnega upada, skeletno-mišičnih deformacij in tipičnih obraznih sprememb. Ključno je zgodnje prepoznavanje bolezní, čeprav s trenutno dostopnimi načini zdravljenja bolezní ne moremo ozdraviti, lahko pa le upočasnimo njen potek, kar je najbolj učinkovito v fazi bolezní še pred pojavom simptomov. Obetavni način zdravljenja je gensko zdravljenje, ki nakazuje možnost ozdravitve bolezní.

Predstavljamo primer dečka, pri katerem je bil prepoznan zgodnji kognitivni upad in za bolezen tipične spremembe. Napoten je bil v terciarno ustanovo, kjer je bila diagnoza potrjena. Deček je bil julija 2018 zdravljen z eksperimentalnim genskim zdravljenjem v tujini (bolnišnica San Raffaele, Milano, Italija). V opisanem primeru gre po našem vedenju za prvo uspešno izpeljano gensko zdravljenje pri slovenskih bolnikih ter za enega prvih primerov genskega zdravljenja mukopolisaharidoze tipa I v svetovnem merilu. Gensko zdravljenje s tem postaja del nove klinične stvarnosti, kar predstavlja

<sup>1</sup> Zdravstveni dom dr. Adolfa Drolca Maribor, Maribor, Slovenija

<sup>2</sup> Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in bolezní presnove, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

<sup>3</sup> Pediatrična služba, Splošna bolnišnica Jesenice, Jesenice, Slovenija

<sup>4</sup> Ospedale San Raffaele, Istituto di ricovero e cura a carattere scientifico, Milano, Italija

<sup>5</sup> Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

<sup>6</sup> Služba za otroško psihiatrijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

<sup>7</sup> Klinični oddelek za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

**Korespondenca / Correspondence:** Urh Grošelj, e: [urh.groselj@kclj.si](mailto:urh.groselj@kclj.si)

**Ključne besede:** mukopolisaharidoza; MPS tipa I; Hurlerjeva bolezen; gensko zdravljenje; presejalno testiranje novorojencev

**Key words:** mucopolysaccharidosis; MPS type I; Hurler disease; gene therapy; neonatal screening

**Prispelo / Received:** 12. 1. 2022 | **Sprejeto / Accepted:** 19. 4. 2022

**Citirajte kot/Cite as:** Jalšovec T, Lah B, Bernardo ME, Drole Torkar A, Kodrič J, Žerjav Tanšek M, et al. Prikaz primera prvega uspešnega genskega zdravljenja slovenskega bolnika z mukopolisaharidozo tipa I v tujini. Zdrav Vestn. 2022;91(11–12):507–15. DOI: <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.3328>



Avtorske pravice (c) 2022 Zdravniški Vestnik. To delo je licencirano pod Creative Commons Priznanje avtorstva-Nekomercialno 4.0 mednarodno licenco.

pomemben mejnik za naš prostor. Zaradi naprednih zdravljenj bi bilo v prihodnosti smiselno uvesti presejalno testiranje novorojenčkov za MPS tipa I, ki se pri nas ali v Evropi doslej še ne izvaja. Do tedaj pa ostaja najpomembnejši predpogoj za uspešno zdravljenje zgodnja klinična prepoznavna boleznin in napotitev v terciarno zdravstveno ustanovo.

## Abstract

Mucopolysaccharidoses are a group of lysosomal storage diseases. Their common feature is the lack of enzymes that break down glycosaminoglycans, polysaccharides that bind to proteoglycans and form the extracellular matrix. Because there are no enzymes that break down glycosaminoglycans, they accumulate in lysosomes and cause damage to them. Consequently, they damage other cellular organelles, cells, and finally, organs. The clinical picture is broad, ranging from neurocognitive decline, musculoskeletal deformities, and coarse facial features. Although we are currently unable to cure the disease, the sooner a diagnosis is made, the better the treatment outcome may be in slowing down the course of the disease. A promising treatment is gene therapy, which suggests the possibility of curing the disease. Early detection of the disease is crucial.

In this clinical case, we present a boy where early cognitive decline, and signs typical of the disease were identified. He was referred to a tertiary institution, where the diagnosis was confirmed. In July 2018, he underwent experimental gene therapy as part of a clinical study abroad (San Raffaele Hospital, Milan, Italy). To our knowledge, this is the first successfully performed gene therapy in a Slovenian patient and, at the same time, one of the first cases of gene therapy of mucopolysaccharidosis type I on a global scale. Gene therapy has become part of our clinical reality, and it represents an important milestone in the treatment of inborn diseases. It would make sense to introduce newborn screening for MPS type I, which is not yet carried out in Slovenia or Europe. Until then, the most important prerequisite for successful treatment remains early clinical recognition of the disease and referral to a tertiary health care facility.

## 1 Uvod

Mukopolisaharidoze (MPS) so skupina dednih presnovnih bolezni. Povzročajo jih spremembe v genih, ki kodirajo lizosomske encime, ki razgrajujejo glikozaminoglikane (GAG), t.i. kisle mukopolisaharide. Slednji so dolgoverižni ogljikovi hidrati. Med najštevilčnejše GAG spadajo hondrotin-4-sulfat, heparan-sulfat, dermatan-sulfat, keratan-sulfat in hialuronan. Te snovi se povezujejo s proteoglikani, ki tvorijo znotrajcelični matriks. Okvare encimov lizosomskih hidrolaz, ki razgrajujejo GAG, povzročijo znotrajcelično kopičenje slednjih v lizosomih. Kopičenje GAG okvari celični metabolizem in v skrajnem primeru vodi v celično smrt; poleg tega pa povzroča tudi spremembe področnih tkiv kot posledica kopičenja. Najbolj prizadeto je tkivo skeleta, centralnega živčevja, visceralnih organov, kože in endokarda. Klinični potek bolezni je napredujoč (1).

MPS so avtosomno-recesivne bolezni, z izjemo Hunterjeve bolezni, ki je na kromosom X vezana bolezen. Uvrščamo jih v skupino bolezni kopičenja, natančneje v skupino lizosomskih bolezni kopičenja. Incidenca bolezni je med 3,5 in 4,5 na 100.000 rojstev, zato se uvrščajo v skupino redkih bolezni (1).

Na podlagi količine in vrste znotrajceličnih razgradnih produktov ločimo različne klinične slike in bolezenske entitete. Tako delimo MPS na 7 tipov in 13 podtipov. Pri vseh tipih je možen lažji in težji bolezenski

potek. Ob rojstvu pri otrocih s MPS običajno posebnosti ne ugotavljamo, čeprav so opisani primeri neimunskega hidropsa ploda (2). Kasneje se praviloma pri vseh tipih pojavijo spremembe na mišično-skeletnem sistemu, kot so deformacije kosti, sklepov, prikrajšave mišic, tetiv in sklepnih vezi. Slednje povzročijo kontrakture sklepov. Prisotna je napredujoča nizka rast in nastajajoče grobe obrazne poteze. Zaradi kopičenja se razvije hepatomegalija. Glede na tip MPS se razvije napredujoča izguba že pridobljenih kognitivnih sposobnosti. Pride lahko do kopičenja v roženici in do razvoja motnjav. Otroci slabo slišijo zaradi hipertrofije tonzil in žrelnice. Imajo lahko različne hernije trebušne stene in pogoste okužbe dihal (1).

Diagnozo ob značilni klinični sliki potrdijo laboratorijske preiskave, pri katerih je presejalna preiskava določitev količine izločenih GAG v urinu. Ob povečanem izločanju GAG v urinu je naslednja stopnja določitev aktivnosti encima v levkocitih ali fibroblastih. Preiskava se opravlja v visoko specializiranih laboratorijih. Za določitev aktivnosti encima najpogosteje zadošča suha kaplja krvi na ustrezni testni kartici ali pa vzorec krvi. Glede na izvid encimske aktivnosti ali pa prednostno glede na razpoložljivost genetske analize je utemeljen tudi pregled genskega zapisa, tj. sekvenciranje gena za manjkajoči encim in nato genetska potrditev diagnoze (3).

Zdravljenje MPS je omejeno, saj ni ustreznega vzročnega zdravljenja. Obstoječi terapevtski pristopi zdravljenja MPS so usmerjeni v dostavo delujočega encima v celice in s tem znižanje količine GAG v lizosomih, tj. encimsko nadomestno zdravljenje (ENZ). Ta proces temelji na celičnih receptorjih, ki omogočajo endocitozo v prizadeto celico. ENZ ni na voljo za vse tipe MPS. Na voljo je za MPS tipe I, II, IV podtip A, IV in VII (4). Ta oblika zdravljenja je uspešna pri visceralnih pojavih bolezni, medtem ko so spremembe skeleta, roženice in srčnih zaklopk praviloma odporne za to obliko zdravljenja. Zdravljenje je uspešno, če se uvede zelo zgodaj, saj ne more popraviti že povzročene škode. Učinek ENZ je dodatno omejen, ker zdravilo ne prehaja v centralno živčevje. Imunski odziv na rekombinantni encim lahko povzroči postopno zmanjševanje aktivnosti rekombinantnega encima (4).

Presaditev darovanih krvotvornih matičnih celic (PKMC) je tudi terapevtska možnost, saj imajo presajene celice ustrezni encim, ki razgrajuje GAG, vendar pa je tudi v tem primeru razpoložljivost encima v centralnem živčevju majhna (5).

Zato so v zadnjih letih razvili nekaj novih možnih načinov zdravljenja MPS; ena takšnih je substrat reducirajoče zdravljenje (SRZ). To so molekule, ki inhibirajo sintezo GAG in tako kompenzirajo zmanjšano encimsko aktivnost. Ker so te molekule sorazmerno majhne in imajo potencial za prehajanja krvno-možganske pregrade, bi tako lahko vplivale na kognitivni razvoj. Terapija je še v fazi predkliničnih študij, zato še ne poznamo ne možne uspešnosti in ne morebitnih stranskih učinkov (6).

Ob vseh opisanih terapevtskih možnostih je trenutno najbolj obetavno gensko zdravljenje, ki je še v fazi kliničnih raziskav (3,7).

### 1.1 Klinične značilnosti MPS tip I – Hurlerjeve bolezni

MPS tipa I povzroča okvara encima alfa-L-iduronidaza, posledica katerega je kopičenje GAG in napredujoča poškodba celične presnove. Pri MPS tip I se kopičita predvsem dermatan-sulfat in heparan-sulfat. Bolezen je posledica mutacije v genu *IDUA*, ki kodira zapis za sintezo encima. MPS tip I se deli na tri podtipe, Hurlerjeva, Hurler-Scheiejeva in Scheiejeva bolezen, ki je med temi 3 tipi najlažje potekajoča bolezen. Hurlerjeva bolezen pa je najtežja oblika MPS tipa I (3). Imenovana je po Gertrud Hurler, nemški pediattrinji iz 19. stoletja, ki je prva opisala to bolezen. V klinični sliki v primerjavi z ostalima podtipoma najbolj izstopa

prizadetost centralnega živčevja (8).

Prizadetost centralnega živčevja napreduje in se v prvih letih življenja praviloma kaže z izgubo že pridobljenih znanj in veščin. Otroci so pa v primerjavi z drugimi oblikami MPS manj hiperaktivni in navadno niso agresivni. Propad možganovine lahko povzroči razvoj komunikativnega hidrocefalusa, kar pospešuje kognitivni upad. Praviloma nimajo epileptičnih napadov (8). Ob nevroloških težavah imajo še težave z dihanjem, saj se zaradi kopičenja v tkivih zmanjša elastičnost dihalnih poti, ki se zaradi tega zožijo. Zato so pogoste okužbe dihal in vnetja srednjega ušesa, zaradi česar je moten tudi razvoj sluha (3).

Otroci po prvem letu postopno pridobijo tipični izgled, ki se kaže kot krajši vrat, grobe obrazne poteze, povečan jezik (makroglosija), širši razmak med očmi, širok nosni koren. Praviloma rastejo do 3. leta normalno, potem se rast v višino ustavlja zaradi napredovane skeletne displazije (*lat.* *dysostosis multiplex*). Zaradi skeletnih in nevroloških sprememb imajo otroci širokotirno in nestabilno hojo. Pregled kliničnih znakov in simptomov je v Tabeli 1 (3).

### 1.2 Priporočene oblike zdravljenja MPS tip I

Prvo specifično zdravljenje za MPS tip I je bilo v ZDA odobreno že leta 2003 v obliki ENZ z rekombinantno pridobljenim encimom alfa-L-iduronidaza (laronidaza), ki vstopa v celice z endocitozo preko manoza-6-fosfatnih receptorjev in delno nadomesti manjkajoči encim. Zdravljenje poteka v obliki tedenske intravenske infuzije, vendar pa encim ne prehaja krvno-možganske pregrade, kar pomeni, da ne vpliva na napredujoči kognitivni in motorični upad (9). ENZ upočasnjuje napredovanje nekaterih kliničnih posledic bolezni, ne izboljša pa že nastalih okvar ob začetku zdravljenja. Pogost zaplet ENZ je razvoj akutnega (alergijske reakcije) ali pa kroničnega imunskega odgovora na zdravilo (nevtralizirajoča protitelesa, ki lahko zmanjšajo učinkovitost zdravljenja).

Glede na slabo uspešnost ENZ je že zgodaj postala PKMC boljša oblika zdravljenja, saj pomembneje zniža GAG kot ENZ in normalizira koncentracijo encima v krvi. PKMC izboljša somatske simptome in znake bolezni ter upočasnjuje napredovanje bolezni bolje kot ENZ. Toda ne izboljša že obstoječe okvare centralnega živčevja, tako da je glede na zahtevnost in možne resne stranske učinke postopka transplantacije priporočena oblika zdravljenja, preden so prisotni simptomi okvare možganov (10). Po dosedanjih izkušnjah je smiselna do dopolnjenega 2,5. leta starosti (11).

**Tabela 1:** Klinični znaki in simptomi MPS tip I. Povzeto po Clarke LA in Kiely BT, et al., 2017 (3,8).

Organski sistem	Klinični znaki in simptomi bolezni
Mišično-skeletni sistem	Zastoj rasti, dorzo-lumbalna kifoza, displazija kolkov, širokotirna hoja, sindrom karpalnega kanala, deformacija dlani.
Usta, nos, ušesa, oči	Konstantni rinitis, povečane tonzile in žrelnica, motnjave roženice, pogosta vnetja srednjega ušesa, izguba sluha, povečan jezik.
Obrazne poteze	Zadebelitev nosnih kril, ustnic, uhljev, jezika. Skafocefalija, makrocefalija. Hipertrihoza.
Gastrointestinalni sistem	Ingvinalna hernija, umbilikalna hernija, hepatomegalija.
Srčno-žilni sistem	Zadebelitve lističev zaklopk, napredujoče popuščanje in stenoze zaklopk. Kardiomiopatije, aritmije, bolezni koronarnih žil.
Intelektualne sposobnosti	Razvojni zaostanek, upad že pridobljenih sposobnosti, nerazvit govor, umirjeni, neagresivni. Komunikantni hidrocefalus.

Če se je diagnoza postavila pozno in so prisotni znaki napredovale bolezni, vključno s kognitivno motnjo, se priporoča samo ENZ, kar pomeni le upočasnitev razvoja bolezni in lajšanje simptomov. Nobeno doslej priporočeno zdravljenje pa ne omogoča ozdravitve. Obet ozdravitve prinaša gensko zdravljenje, ki se danes izvaja v obliki kliničnih študij (12,13).

### 1.3 Gensko zdravljenje

PKMC se je za zdravljenje presnovnih bolezni prvič uporabila za zdravljenje Hurlejeve bolezni. Osnovna ideja je bila, da se bolniku vnese dolgoročni vir pravilno delujočega encima, kar je v tem primeru zdrava donorska matična celica. Ker se v manjšem številu donorske celice vgnezdijo tudi v centralno živčevje, omogoča ta način zdravljenja tudi vpliv na spremembe v centralnem živčevju. PKMC je uspešna metoda zdravljenja (14). Na voljo so mednarodni protokoli, ki temeljijo na izkušnjah številnih centrov, po katerih se izvaja presaditev. Posamezniku lahko izberemo čim bolj ustreznega HLA-skladnega darovalca. Individualizira se lahko kondicioniranje in spremljanje po presaditvi. Tako je smrtnost po presaditvi manjša od 10 % (15). Zmanjša se tudi kasnejša smrtnost na račun izboljšanja kognitivnih in motoričnih sposobnosti bolnika. Je pa uspešnost takšnega zdravljenja omejena, saj je pomembna starost ob postavitvi diagnoze zaradi že obstoječega bremena bolezni in bremena samega zdravljenja pred in med presaditvijo ter zaradi zapletov po presaditvi (14).

Gensko zdravljenje je od vseh možnosti zdravljenja v zadnjih letih pritegnilo največ pozornosti. Ima potencial ustvariti stabilni vir delujočega encima tako v visceralnih organih kot v centralnem živčevju (14).

Gensko zdravljenje delimo po dveh principih. Po metodi *in vivo* genskega zdravljenja se v telo vbrizga virusni vektor s pravilnim genskim zapisom za okvarjen encim, ki okuži telesne celice in tako vnese pravilni genski zapis v zapis celice. Po uspešni transdukciji začne celica izdelovati ustrezni encim in razgrajevati GAG, kjer je to potrebno. Za uspešno *in vivo* gensko zdravljenje morata biti izpolnjena dva pogoja: da je bolezen monogenska ter recesivno dedna, obenem pa da lahko sorazmerno majhna količina delujočega encima zadostuje za izboljšanje kognitivne in motorične sposobnosti. *Ex vivo* metoda deluje tako, da bolniku odvzamemo njegove lastne krvotvorne matične celice, jih vzdržujemo v kulturi v laboratoriju zunaj telesa, s pomočjo vektorja vstavimo želeni genski zapis za manjkajoči encim, nato pa jih presadimo bolniku nazaj. Preizkušeni so bili različni virusni vektorji, med najbolj učinkovitimi v predkliničnih študijah so se izkazali adenovirusi, adenovirusom podobni virusi, retrovirusi in lentivirusi (15). Za uporabne v genskem zdravljenju MPS so najbolj uspešni rekombinantni adenovirusom podobni virusi. Ti lahko povzročijo transdukcijo v različnih celicah, lahko vztrajajo kot episomi, imajo nizko tveganje mutacij in genotoksičnosti (9).

## 2 Predstavitve primera

Predstavljamo potek obravnave dečka, starega 18 mesecev, ki je bil februarja 2018 napoten na Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in bolezen presnove (KOEDBP) Pediatrične klinike UKC Ljubljana. Napoten je bil zaradi suma na presnovno bolezen. Deček se je rodil po normalno potekajoči nosečnosti in imel primerne obporodne mere. Po porodu je bil zdravljen zaradi suma na obporodno sepso. Do prvega leta





**Slika 1:** Deček tri tedne pred genskim zdravljenjem (lastni vir).



**Slika 2:** Deček dva tedna po genskem zdravljenju (lastni vir).

starosti ni bilo večjih odstopanj v dečkovem razvoju. Na teži je primerno pridobival. Samostojno je sedel pri 9 mesecih, shodil je pri starosti 12 mesecev. Govoril je posamezne smiselne besede. Po prvem letu starosti je dečkov razvoj začel stagnirati, hoja je postajala nestabilna, razvila se je torakalna kifoza, pojavile so se tudi grobe displastične obrazne poteze. V starosti 18 mesecev ga je pregledal pediater nevrolog v splošni bolnišnici, ki je ugotavljal grobe obrazne poteze; hipertelorizem, širok nosni koren, prominentno čelo, hepatomegalijo, kontrakture sklepov, predvsem kolen, popkovno kilo in torakalno kifozo. Deček je ob pregledu hodil brez opore, uporabljal zloge, ni pa govoril posameznih besed. Zaradi suma na presnovno bolezen so ga napotili na Klinični oddelek za diabetes in bolezni presnove Pediatrične klinike UKC Ljubljana. Osnovne laboratorijske preiskave so bile, razen mikrocitne anemije, v mejah normale. Vzorec 24-urnega urina je bila poslan v Univerzitetni klinični center Zagreb za določitev GAG; vrednost je bila povišana na 124,8 mg/mmol kreatinina (referenčni interval znaša <20). Suha kaplja dečkove krvi je bila poslana v referenčni laboratorij v Rostock (Nemčija), ki je določil aktivnost encima alfa-iduronidaze pod zaznavno mejo. Hkrati z določitvijo encimske aktivnosti so identificirali homozigotno patološko mutacijo gena *IDUA*; *c.603C>G p.(Tyr201\*)*, ki tvori t. i. stop kodon. Potrjena je bila avtosomno recesivna MPS tipa I. Ultrazvočni (UZ) pregled trebuha je pokazal povečana jetra in vranico, drugih posebnosti pa ni bilo. Na Slikah 1 in 2 je deček ob začetku zdravljenja.

Po celoviti klinični obravnavi in ob soglasju staršev je bil deček vključen v klinično preizkušanje *ex vivo* genskega zdravljenja MPS tipa I z uporabo lentivirusnega vektorja za gen *IDUA* v Milanu (študija TigeT-10-MPS IH). Dečku so iz periferne krvi izločili lastne krvotvorne matične celice. Slednje so potem kultivirali in opravili na kulturi genski transfer ter jih dečku po pripravi julija 2018 uspešno vsadili. Aktivnost encima alfa-iduronidaze transplantiranih celic je bila 2705 nmol/mg/h, vitalnih celic je bilo 95 %.

Po 6 mesecih po genskem zdravljenju so na kontrolnem pregledu ugotavljali manj vidne grobe poteze obraza. Organomegalije ali motenj krčljivosti srca niso ugotavljali. Gibljivost oz. amplituda gibov v sklepih se je povečala. Na magnetnoresonančnem slikanju (MRI) hrbtenice so opazili zmanjšanje kifoze. 9 mesecev po zdravljenju se je dodatno izboljšala gibljivost sklepov. Govorne spretnosti se sicer niso spremenile. Deček se je s starši še vedno sporazumeval večinoma s kretnjami, očesnim stikom, zvoki in zlogi brez pomena, jokom in kričanjem. Pri nevrološkem pregledu so opazili



**Slika 3:** Deček danes (lastni vir).

izboljšanje tako grobe kot fine motorike. Hoja in tek sta bila še nekoliko nerodna, izboljšala sta se tudi ravnotežje in fina motorika rok. Na kontrolnem pregledu 12 mesecev po zdravljenju je bilo pri dečku prisotno boljše razumevanje verbalne komunikacije in izboljšanje neverbalne komunikacije. Med hojo je bila drža boljša (manj je stopal na prste, hodil je z manj skrčenimi koleni). Deček je lahko tekal in skakal. Fina motorika rok pa je bila še nerodna. Rast je bila zadovoljiva, v enem letu je deček zrasel 10,9 cm. Raven IDUA v krvi je bil nad mejo normale in je ostala stabilna na vseh pregledih, GAG v urinu so bili v normalnem območju. Na **Slikah 3 in 4** vidimo dečka danes. Deček je edini, ki je v družini zbolel. Starša sta heterozigota za gensko mutacijo. Kasneje se jima je rodila zdrava deklica.

Pri psihološkem pregledu smo pri dečku pred zdravljenjem, pri kronološki starosti 20 mesecev, na vseh razvojnih področjih ugotavljali pomemben razvojni zaostanek. Zaostanek je bil največji na govornem področju. V komunikaciji in socialni interakciji se ni odzival. Po zdravljenju se je začel postopoma odzivati v komunikaciji in vključevati v socialno interakcijo ter je napredoval na govornem področju. Med spremljanjem njegovega razvoja v obdobju dveh let po zdravljenju



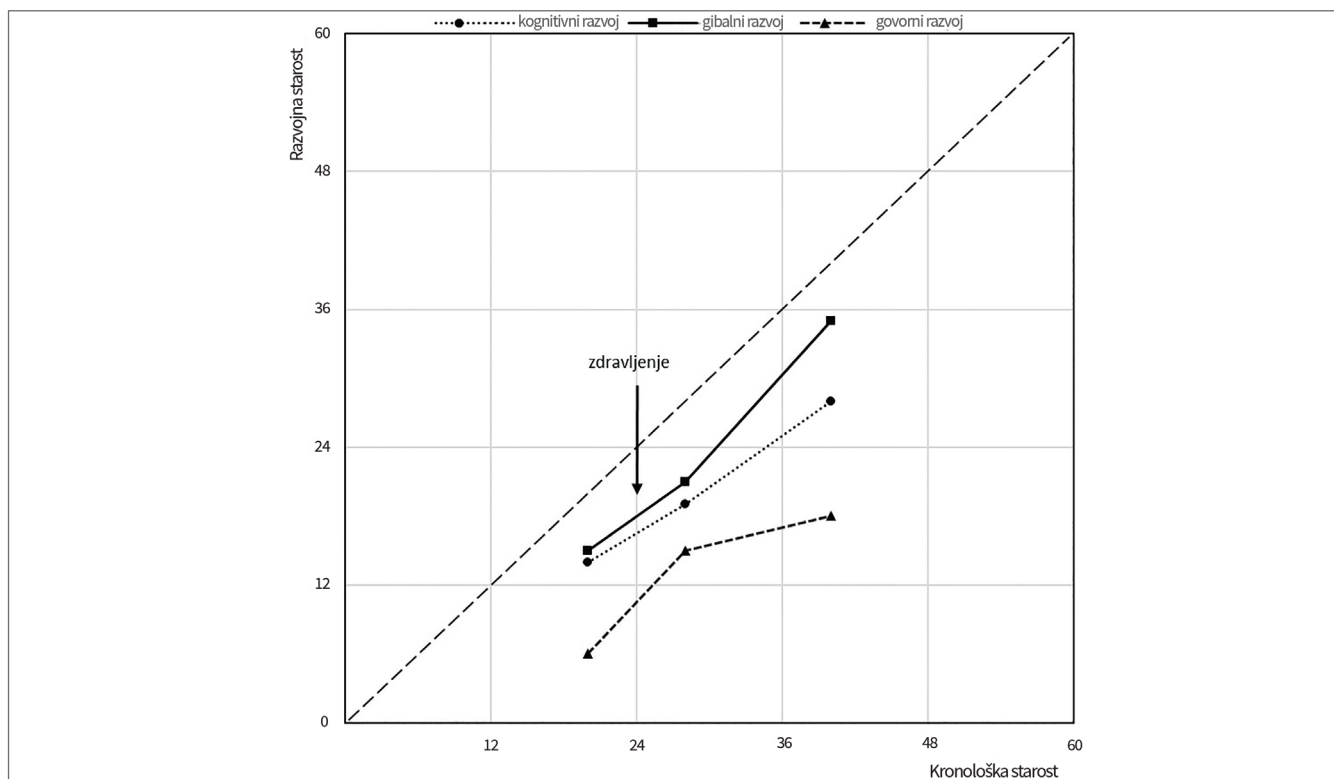
**Slika 4:** Deček danes (lastni vir).

beležimo postopen napredek na vseh razvojnih področjih. V njegovem vedenju so v ospredju težave s pozornostjo in uravnavanjem čustev in vedenja. Dečkovi razvojni dosežki so prikazani na **Sliki 5**.

### 3 Razprava

MPS tipa I je kronična, napredujoča, redka presnovna bolezen. Doslej znane možnosti zdravljenja nam dajejo omejene terapevtske uspehe (4). Poznavanje boleznin in zgodnje diagnosticiranje sta ključna pri zdravljenju. Nediagnosticirana bolezen pomeni, da pri starejšem bolniku ugotavljamo večji kognitivni upad in več organske prizadetosti. Slednje lahko samo delno popravimo s terapevtskimi možnostmi, ki jih imamo





**Slika 5:** Dečkovi razvojni dosežki na Lestvicah zgodnjega razvoja N. Bayley (Bayley III) na področjih kognitivnega, govornega in gibalnega razvoja pred genskim zdravljenjem in po zdravljenju (lastni vir).

na voljo. Večja prizadetost otroka zahteva tudi več podpornega zdravljenja v smislu zdravljenja zapletov in celostne rehabilitacije (8).

ENZ s človeško rekombinantno alfa-iduronidazo je na voljo že skoraj 20 let. Omogočila je izboljšanje kliničnih znakov bolezni in kakovosti življenja. Ne prehaja pa krvno-možganske pregrade, zato ne vpliva na napredujoči kognitivni upad. ENZ je edina možnost zdravljenja za bolnike, ki niso kandidati za PKMC (6,14). PKMC se ne priporoča za bolnike, ki so ob postavitvi diagnoze starejši od 2,5 let, saj imajo praviloma že pomemben razvojni zaostanek ter druge pridružene bolezni. Omejitev PKMC je tudi razpoložljivost ustreznih donorjev krvotvornih matičnih celic in ogroženost bolnika zaradi možnih zapletov po presaditvi (11,12). V retrospektivnih študijah ni bilo potrjeno, da kombinacija PKMC in ENZ, pred in po presaditvi, poveča uspešnost presaditve. Prav tako so ugotovili, da ima PKMC pri otrocih, obolenih za MPS tipa I in ob ugodnem poteku bolezni, prednost pred ENZ (7). Ob slabšem poteku bolezni pa lahko ENZ izboljša otrokovo klinično stanje, da tako morda postane šele kandidat za PKMC. ENZ, podobno kot SRZ, ob obstoječih omejitvah glede uspešnosti zdravljenja slednjih in preostalega bremena bolezni, pomeni trajno, doživljenjsko

dajanje sorazmerno dragih zdravil (7).

PKMC je terapija izbire za zdravljenje obolenih zaradi MPS tipa I. Dolgoročno preživetje in izboljšanje kliničnih znakov bolezni po presaditvi so obetavni. Obstajajo pa omejitve tega zdravljenja, predvsem smrtnost zaradi neuspešnega vneznjenja presadka in zaradi bolezni presadka proti gostitelju. Slednje se izboljšuje na račun individualizacije terapije in izkušenj v večjih centrih. Ostaja pa delna uspešnost, predvsem ob zdravljenju mišično-skeletnih sprememb in kognitivnega upada, saj je raven cirkulirajočega delujočega encima po presaditvi v krvi normalna in tako manj prehaja krvno-možgansko pregrado in v skelet. Tako ostane preostalo breme bolezni kljub uspešnemu zdravljenju, tj. presaditvi, sorazmerno veliko, saj je potrebno zdravljenje zapletov in ustrezna rehabilitacija otrok (6,14,15).

Slednje je postalo gonilo razvoja boljnih možnosti zdravljenja. Temu se najbolj danes približuje gensko zdravljenje. *Ex vivo* gensko zdravljenje s pomočjo lentivirusov je v raziskavah na mišjih modelih pokazalo, da ta omogoča distribucijo delujočega encima v vsa tkiva. Na mišjih modelih so opazovali popolno regresijo vseh bolezenskih sprememb, tudi nevroloških in mišično-skeletnih (11). Tako predstavlja možnost za

zdravljenje tudi preostalih bolezenskih sprememb, ki so neodvisne na zdravljenje z ENZ in na zdravljenje s presaditvijo krvotvornih matičnih celic (11,12). Uspešnost genskega zdravljenja pri ljudeh je obetavna, kot smo predstavili tudi v kliničnem primeru. Vidimo tako izboljšanje klinične slike kot porast aktivnosti encima in zmanjšanje kopičenja GAG. Ker pa klinična preizkušanja še niso zaključena, ne moremo predvideti, kako bo z dolgoročno uspešnostjo.

Uspešnost vseh možnosti zdravljenja je po vseh pregledanih raziskavah najbolj odvisna od zgodnjega odkrivanja bolezni in čimprejšnjega začetka zdravljenja (16,17,18,19). Postavlja se vprašanje o vključitvi lizosomskih bolezni kopičenja, med katere spada MPS tipa I, v sklop bolezni za presejalno testiranje novorojenčkov, ki pa se pri nas ali v Evropi doslej še ne izvaja (20,21,22). Bolezen sodi v skupino redkih presnovnih bolezni. Pojavnost vseh lizosomskih bolezni kopičenja je primerljiva s pojavnostjo klasične fenilketonurije. Nakazuje se, da bomo imeli z genskim zdravljenjem dolgoročno uspešno in doživljenjsko zdravljenje. Tudi obstoječe možnosti zdravljenja so bolj uspešne, če bolezen odkrijemo zgodaj. Skrajša se tudi stresno in negotovo obdobje do postavitve dokončne diagnoze. Zdravljenje še neizražene bolezni zmanjša kasnejšo potrebo po zdravljenju zapletov in rehabilitacija otroka (16,17). Določanje aktivnosti encima je možno iz suhe kaplje krvi, zato je obetajoče bolezen vključiti v obstoječe presejalne programe (19).

## 4 Zaključek

MPS tipa I – Hurlerjeva bolezen je redka, napredujoča bolezen kopičenja. Njen potek zaradi kopičenja GAG v lizosomih vodi v propad celic in celostni tako organski kot tudi nevro-kognitivni propad. Smrt nastopi zgodaj v življenju, praviloma zaradi zapletov, kot so različne okužbe, predvsem okužbe dihal (1,2,3). Otrok je ob rojstvu brez težav in se prvih 6 mesecev življenja praviloma razvija normalno kot njegovi sovrstniki. Kasneje se pojavijo sprva diskretni in potem vse izrazitejši klinični znaki. Otrok ne napreduje ali celo nazaduje po razvojnih mejnikih. Osvoji govor, posamezne smiselne besede, ki potem nazaduje v čebljanje. Hoja postane okorna in nestabilna zaradi torakalne kifoze in kontraktur sklepov. Obrazne poteze postanejo bolj ostre; visoko prominentno čelo, širok nosni koren, hipertelorizem, makroglosija. Bolniki so nižje rasti zaradi slabše rasti in zaradi deformacij mišično-skeletnega sistema. Pogoste so okužbe dihal in vnetja srednjega ušesa, na račun slednjega pa otroci slabše slišijo (1,2,3,8).

V opisanem primeru gre po našem vedenju za prvo uspešno izpeljano gensko zdravljenje pri slovenskih bolnikih v tujini ter hkrati za enega prvih primerov genskega zdravljenja MPS tipa I v svetovnem merilu. Primer prikazuje dečkov klinični potek po zdravljenju. Rezultate prelomne klinične raziskave na tem področju je nedavno skupina centra iz Milana objavila v ugledni reviji *New England Journal of Medicine*, pri kateri smo sodelovali tudi avtorji tega članka (23). V slednji klinični raziskavi je bilo z gensko terapijo zdravljenih 8 otrok. V svetovnem merilu poteka 15 kliničnih študij genskega zdravljenja MPS. Gensko zdravljenje s tem postaja del nove klinične stvarnosti, kar je pomemben mejnik v našem prostoru.

Smiselna bi bila uvedba presejalnega testiranja novorojenčkov za MPS tipa I, ki se pa pri nas ali v Evropi doslej še ne izvaja (20,21,22). Do tedaj pa ostaja najpomembnejši predpogoj predsimptomatska ali zgodnja klinična prepoznavna bolezni in napotitev v terciarno zdravstveno ustanovo (17,18,19).

## Izjava o navzkrižju interesov

Avtorji nimamo navzkrižja interesov.

Gensko zdravljenje MPS tip I je bilo razvito v ustanovi San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy (SR-TIGET). Podjetje Orchard Therapeutics je od Fundacije Telethon in Bolnišnice San Raffaele pridobilo licenco maja 2019.

## Soglasje staršev za objavo

Starši otroka se strinjajo z objavo članka, ki opisuje otrokov primer.

## Zahvala

Zahvaljujemo se staršema, ki sta nam posredovala in dovolila objaviti slikovni material.

Zahvaljujemo se kolegom iz Bolnišnice San Raffaele (Ospedale San Raffaele), Milano, Italija; prof. dr. Alessandro Aiuti, dr. Maria Ester Bernardo, dr. Diana De Bellis, dr. Chiara Filisetti, dr. Francesca Fumagalli, dr. Bernhard Gentner, dr. Salvatore Recupero, dr. Francesca Tucci, ki so dečka vključili v klinično študijo, za njihovo celovito strokovno sodelovanje in pomoč.

Podjetje Orchard Therapeutics PLC, London, Združeno Kraljestvo Velike Britanije in Severne Irske, lastnik licence za razvoj genskega zdravljenja MPS tip I, je dovolilo objavo kliničnega primera.



## Literatura

- Zhou J, Lin J, Leung WT, Wang L. A basic understanding of mucopolysaccharidosis: Incidence, clinical features, diagnosis, and management. *Intractable Rare Dis Res.* 2020;9(1):1-9. DOI: [10.5582/irdr.2020.01011](https://doi.org/10.5582/irdr.2020.01011) PMID: 32201668
- Whybra C, Mengel E, Russo A, Bahlmann F, Kampmann C, Beck M, et al. Lysosomal storage disorder in non-immunological hydrops fetalis (NIHF): more common than assumed? Report of four cases with transient NIHF and a review of the literature. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;7(1):86. DOI: [10.1186/1750-1172-7-86](https://doi.org/10.1186/1750-1172-7-86) PMID: 23137060
- Clarke LA. Mucopolysaccharidosis Type I. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews*®. Seattle: University of Washington; 1993-2022.
- Beck M. New therapeutic options for lysosomal storage disorders: enzyme replacement, small molecules and gene therapy. *Hum Genet.* 2007;121(1):1-22. DOI: [10.1007/s00439-006-0280-4](https://doi.org/10.1007/s00439-006-0280-4) PMID: 17089160
- Taylor M, Khan S, Stapleton M, Wang J, Chen J, Wynn R, et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Mucopolysaccharidoses: Past, Present, and Future. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25(7):e226-46. DOI: [10.1016/j.bbmt.2019.02.012](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2019.02.012) PMID: 30772512
- Noh H, Lee JI. Current and potential therapeutic strategies for mucopolysaccharidoses. *J Clin Pharm Ther.* 2014;39(3):215-24. DOI: [10.1111/jcpt.12136](https://doi.org/10.1111/jcpt.12136) PMID: 24612142
- Ferrari G, Thrasher AJ, Aiuti A. Gene therapy using haematopoietic stem and progenitor cells. *Nat Rev Genet.* 2021;22(4):216-34. DOI: [10.1038/s41576-020-00298-5](https://doi.org/10.1038/s41576-020-00298-5) PMID: 33303992
- Kiely BT, Kohler JL, Coletti HY, Poe MD, Escolar ML. Early disease progression of Hurler syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1):32. DOI: [10.1186/s13023-017-0583-7](https://doi.org/10.1186/s13023-017-0583-7) PMID: 28193245
- Fraldi A, Serafini M, Sorrentino NC, Gentner B, Aiuti A, Bernardo ME. Gene therapy for mucopolysaccharidoses: in vivo and ex vivo approaches. *Ital J Pediatr.* 2018;44(S2):130. DOI: [10.1186/s13052-018-0565-y](https://doi.org/10.1186/s13052-018-0565-y) PMID: 30442177
- Eisengart JB, Rudser KD, Xue Y, Orchard P, Miller W, Lund T, et al. Long-term outcomes of systemic therapies for Hurler syndrome: an international multicenter comparison. *Genet Med.* 2018;20(11):1423-9. DOI: [10.1038/gim.2018.29](https://doi.org/10.1038/gim.2018.29) PMID: 29517765
- Visigalli I, Delai S, Politi LS, Di Domenico C, Cerri F, Mraz E, et al. Gene therapy augments the efficacy of hematopoietic cell transplantation and fully corrects mucopolysaccharidosis type I phenotype in the mouse model. *Blood.* 2010;116(24):5130-9. DOI: [10.1182/blood-2010-04-278234](https://doi.org/10.1182/blood-2010-04-278234) PMID: 20847202
- Aldenhoven M, Boelens JJ, de Koning TJ. The clinical outcome of Hurler syndrome after stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14(5):485-98. DOI: [10.1016/j.bbmt.2008.01.009](https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2008.01.009) PMID: 18410891
- Ellinwood NM, Vite CH, Haskins ME. Gene therapy for lysosomal storage diseases: the lessons and promise of animal models. *J Gene Med.* 2004;6(5):481-506. DOI: [10.1002/jgm.581](https://doi.org/10.1002/jgm.581) PMID: 15133760
- Aldenhoven M, Wynn RF, Orchard PJ, O'Meara A, Veys P, Fischer A, et al. Long-term outcome of Hurler syndrome patients after hematopoietic cell transplantation: an international multicenter study. *Blood.* 2015;125(13):2164-72. DOI: [10.1182/blood-2014-11-608075](https://doi.org/10.1182/blood-2014-11-608075) PMID: 25624320
- Palchaudhuri R, Saez B, Hoggatt J, Schajnovitz A, Sykes DB, Tate TA, et al. Non-genotoxic conditioning for hematopoietic stem cell transplantation using a hematopoietic-cell-specific internalizing immunotoxin. *Nat Biotechnol.* 2016;34(7):738-45. DOI: [10.1038/nbt.3584](https://doi.org/10.1038/nbt.3584) PMID: 27272386
- Chien YH, Lee NC, Thurberg BL, Chiang SC, Zhang XK, Keutzer J, et al. Pompe disease in infants: improving the prognosis by newborn screening and early treatment. *Pediatrics.* 2009;124(6):e1116-25. DOI: [10.1542/peds.2008-3667](https://doi.org/10.1542/peds.2008-3667) PMID: 19948615
- Clarke LA, Atherton AM, Burton BK, Day-Salvatore DL, Kaplan P, Leslie ND, et al. Mucopolysaccharidosis type I newborn screening: best practices for diagnosis and management. *J Pediatr.* 2017;182:363-70. DOI: [10.1016/j.jpeds.2016.11.036](https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.11.036) PMID: 27939258
- Polo G, Gueraldi D, Giuliani A, Rubert L, Cazzorla C, Salviati L, et al. The combined use of enzyme activity and metabolite assays as a strategy for newborn screening of MPS type I. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(12):2063-72. DOI: [10.1515/ccclm-2020-0064](https://doi.org/10.1515/ccclm-2020-0064) PMID: 32432561
- Li Y, Scott CR, Chamoles NA, Ghavami A, Pinto BM, Turecek F, et al. Direct multiplex assay of lysosomal enzymes in dried blood spots for newborn screening. *Clin Chem.* 2004;50(10):1785-96. DOI: [10.1373/clinchem.2004.035907](https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.035907) PMID: 15292070
- Lampret BR, Remec ŽI, Torkar AD, Tanšek MŽ, Šmon A, Koračin V, et al. Expanded Newborn Screening Program in Slovenia using Tandem Mass Spectrometry and Confirmatory Next Generation Sequencing Genetic Testing. *Zdrav Varst.* 2020;59(4):256-63. DOI: [10.2478/sjph-2020-0032](https://doi.org/10.2478/sjph-2020-0032) PMID: 33133282
- Loeber JG, Platis D, Zetterström RH, Almashanu S, Boemer F, Bonham JR, et al. Neonatal Screening in Europe Revisited: An ISNS Perspective on the Current State and Developments Since 2010. *Int J Neonatal Screen.* 2021;7(1):15. DOI: [10.3390/ijns7010015](https://doi.org/10.3390/ijns7010015) PMID: 33808002
- Koracin V, Mlinaric M, Baric I, Brincat I, Djordjevic M, Drole Torkar A, et al. Current Status of Newborn Screening in Southeastern Europe. *Front Pediatr.* 2021;9:648939. DOI: [10.3389/fped.2021.648939](https://doi.org/10.3389/fped.2021.648939) PMID: 34026686
- Gentner B, Tucci F, Galimberti S, Fumagalli F, De Pellegrin M, Silvani P, et al.; MPSI Study Group. Hematopoietic Stem- and Progenitor-Cell Gene Therapy for Hurler Syndrome. *N Engl J Med.* 2021;385(21):1929-40. DOI: [10.1056/NEJMoa2106596](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2106596) PMID: 34788506