

БОЛЕЗНЬ ТЕЯ-САКСА: ДИАГНОСТИКА, МОДЕЛИРОВАНИЕ И ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ

В.В. Соловьева, А.А. Шаймарданова, Д.С. Чулпанова, К.В. Китаева, А.А. Ризванов

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

TAY-SACHS DISEASE: DIAGNOSTIC, MODELING AND TREATMENT APPROACHES

V.V. Solovyeva, A.A. Shaimardanova, D.S. Chulpanova, K.V. Kitaeva, A.A. Rizvanov

Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

e-mail: rizvanov@gmail.com

Болезнь Тея-Сакса (OMIM 272800) — наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное дефицитом фермента β -гексозаминидазы А (HexA), в результате чего происходит накопление GM2-ганглиозидов в нервной и других тканях организма. Дефицит фермента возникает вследствие различных мутаций гена *HEXA*. Тяжесть клинических признаков при болезни Тея-Сакса определяется остаточной активностью HexA, зависящей от типа (вида) мутации. В настоящее время не существует эффективного лечения болезни Тея-Сакса. Описаны клинические случаи применения субстрат-редуцирующей терапии, трансплантации костного мозга или пуповинной крови, однако терапевтическая эффективность данных методов остается недостаточной для предотвращения усугубления неврологических нарушений у пациентов с болезнью Тея-Сакса. Обнадешивающие результаты получены с использованием методов генной терапии для доставки генов дикого типа, кодирующих α и β субъединицы фермента HexA. В настоящем обзоре обсуждаются терапевтические стратегии лечения болезни Тея-Сакса, а также методы диагностики и моделирование этой патологии на животных для оценки эффективности новых методов терапии болезни Тея-Сакса.

Ключевые слова: лизосомные болезни накопления, GM2-ганглиозидоз, β -гексозаминидаза, болезнь Тея-Сакса, нейродегенерация, воспаление, генная терапия, трансплантация костного мозга.

Введение

GM2-ганглиозидоз представляет собой группу аутосомно-рецессивных заболеваний нарушения обмена веществ, относящуюся к лизосомным болезням накопления. Данные заболевания обусловлены дефицитом гидролитического фермента β -гексозаминидазы (hexosaminidase, Hex), отвечающего за деградацию GM2-ганглиозидов, которые для фермента Hex являются субстратом. Ганглиозиды в наибольшей концентрации представлены в нервной ткани, особенно в головном мозге, главным образом в терминальных аксонах и синаптических окончаниях нейронов, и являются основными гликолипидами нейрональных мембран [1, 2]. Ганглиозиды играют важную роль в функционировании ионного канала и рецепторной сигнализации, обеспечивают нормальное развитие нервной ткани и формирование нейропластичности. Аномальное накопление ганглиозидов приводит к прогрессирующей дисфункции центральной нервной системы (ЦНС) [3].

У β -гексозаминидазы существует два основных изофермента: HexA, состоящий из двух субъединиц — α и β , являющихся продуктами экспрессии генов *HEXA* и *HEXB*, соответственно, и HexB — гомодимер, состоящий из двух β -субъединиц [4, 5]. Две субъединицы фермента HexA (α и β) синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР), где происходит их гликозилирование, образование дисульфидных связей и димеризация. Образование изоферментов обусловлено значительным структурным сходством между α и β субъединицами [5]. После димеризации субъединиц в ЭПР HexA транспортируется

Tay-Sachs disease (OMIM 272800) belongs to the group of autosomal-recessive disorders, caused by β -hexosaminidase A (HexA) enzyme deficiency, resulting in GM2-ganglioside accumulation in nervous and other tissues of the body. Enzyme deficiency is caused by various mutations in *HEXA* gene. Clinical symptom severity depends on residual HexA enzymatic activity associated with some mutations. Currently, there is no effective treatment for Tay-Sachs disease. There are clinical reports of substrate reduction therapy, bone marrow or umbilical cord blood transplantation. However, the therapeutic efficacy of these methods remains insufficient to prevent aggravation of neurological symptoms in Tay-Sachs disease patients. Encouraging results were obtained using gene therapy to deliver wild-type genes encoding the α and β subunits of HexA. This review discusses the therapeutic strategies in Tay-Sachs disease treatment, as well as diagnostic methods and existing animal models to evaluate the effectiveness of new approaches for Tay-Sachs disease therapy.

Keywords: lysosomal storage diseases, GM2-gangliosidosis, β -hexosaminidase, Tay-Sachs disease, neurodegeneration, inflammation, gene therapy, bone marrow transplantation.

в комплекс Гольджи для посттрансляционной модификации: прикреплению маннозо-6-фосфата (М6Ф) к боковым цепям олигосахарида. М6Ф можно рассматривать как адресную метку, распознаваемую специфическими рецепторами, которые находятся на внутренней поверхности мембран комплекса Гольджи. С помощью данной метки лизосомы узнают фермент, поглощают его и происходит протеолитический процессинг α и β субъединиц до зрелых форм [6].

Для нормального функционирования фермента HexA необходимо присутствие белка-активатора GM2A, который выступает в качестве кофактора и превращает липофильный GM2-ганглиозид в форму, доступную для гидролиза в гидрофильной среде лизосомы [7] (рис. 1).

GM2-ганглиозидоз развивается в результате мутаций в трех генах — *HEXA* (15 хромосома), *HEXB* (5 хромосома), *GM2A* (5 хромосома) и включает несколько заболеваний: (I) болезнь Тея-Сакса (БТС, OMIM 272800), при которой мутации в гене *HEXA* приводят к нарушению активности только HexA (вариант B); (II) болезнь Сандхоффа (OMIM 268800), обусловленную мутациями в гене *HEXB* с нарушением активности HexA и HexB (вариант O), и (III) дефицит белка-активатора GM2 (OMIM 272750) вследствие мутации в гене *GM2A* (вариант AB) [8].

Болезнь Тея-Сакса

При БТС, обусловленной дефицитом фермента HexA, GM2-ганглиозиды накапливаются внутри лизосом, которые образуют в нейронах мембранные

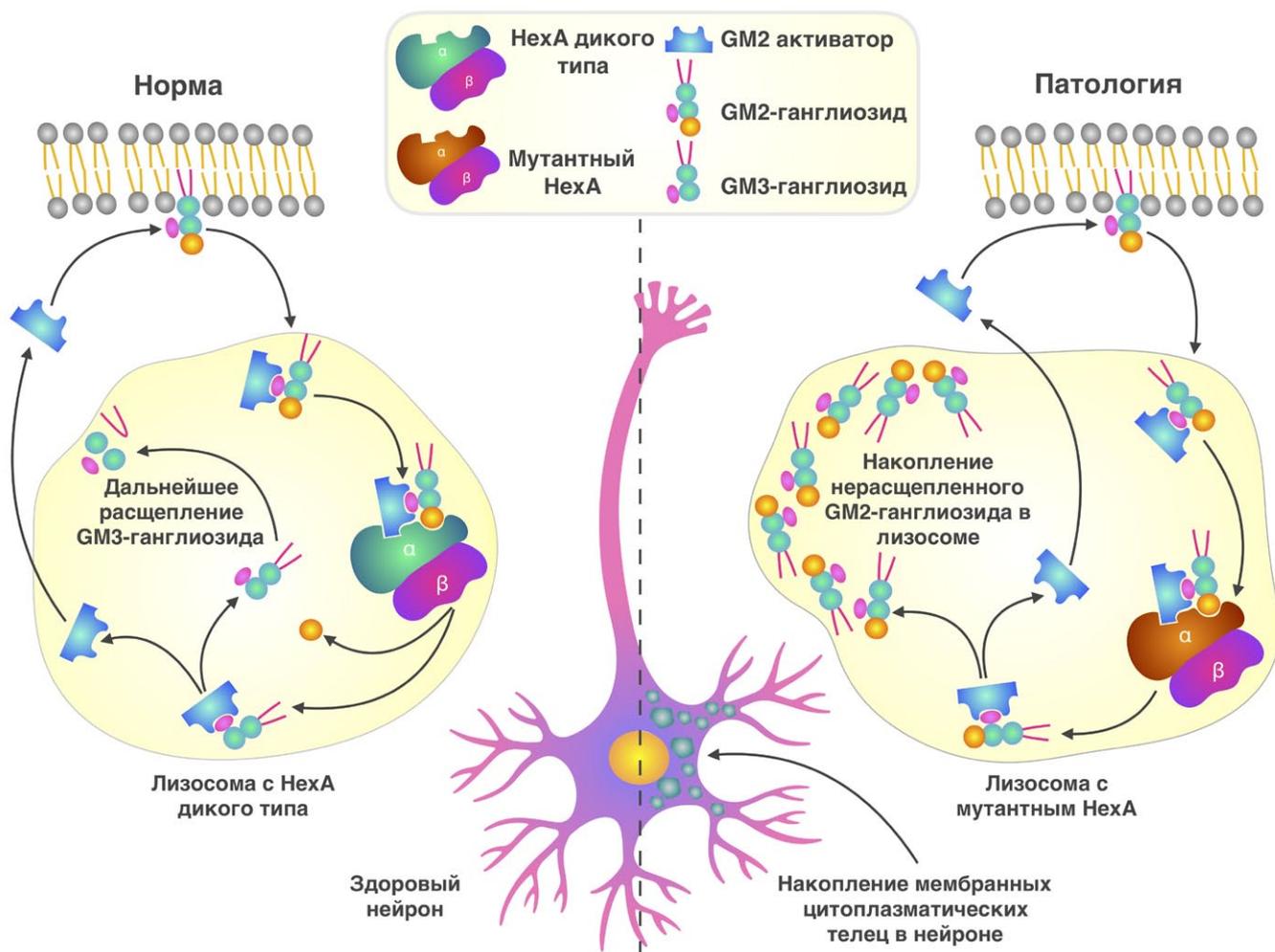


Рис. 1. Метаболизм GM2-ганглиозидов в норме и при болезни Тея-Сакса

цитоплазматические тельца, представляющие собой сильно растянутые лизосомы, заполненные ганглиозидами [4] (см. рис. 1). Накопление ганглиозидов приводит к деструкции мембран нейронов, вследствие чего у пациентов возникает задержка моторного развития, нарушается психическое и физическое развитие. Ганглиозиды также накапливаются в клетках печени и селезенке [9]. При БТС наблюдаются пролиферация (экспансия) активированной микроглии и накопление сложных липидов в макрофагах [10], отмечается активация макрофагов и астроцитов с образованием воспалительных медиаторов [11]. Такой воспалительный ответ возникает до проявления клинических признаков заболевания и может усугублять неврологические нарушения [12]. Сходный процесс развивается в нейронах мозжечка, базальных ганглиев, ствола головного мозга, спинного мозга, спинальных ганглиев, а также в нейронах вегетативной нервной системы [5].

По данным ОМИМ БТС наиболее часто встречается (1:3,6 тыс. новорожденных) у евреев Восточной и Центральной Европы (ашкеназов). Частота носителей в вышеописанной популяции 1:30. В общей популяции частота встречаемости БТС 1:320 тыс. новорожденных (частота носителей 1:250) (<https://omim.org/clinicalSynopsis/272800>). Описано более 130 различных мутаций гена *HEXA* (частичная делеция, мутации при сплайсинге, нонсенс мутации, миссенс мутации), которые приводят к нарушению транскрипции, трансляции, фолдинга, димеризации мономеров и каталитической функции HexA [13].

Гетерогенность БТС в отношении тяжести проявления клинических признаков и возраста начала заболевания обусловлена наличием остаточной активности HexA, зависящей от типа (вида) мутации [14]. Известно, что для предотвращения накопления GM2-ганглиозидов требуется только 10–15% активности HexA [15]. БТС имеет три формы, отличающиеся возрастом больного, когда начинают проявляться первые признаки заболевания, и тяжестью клинических признаков [16].

Инфантильная форма БТС развивается в младенческом возрасте с быстрым прогрессированием задержки психомоторного развития и ассоциируется с очень низкой активностью HexA (<0,5%). При самой тяжелой инфантильной форме симптомы проявляются через несколько месяцев после рождения [17, 18]. Наиболее часто встречающимися нейродегенеративными признаками данной формы являются мышечная гипотония, неспособность самостоятельно сидеть и держать голову, произвольные движения глаз, дисфагия, судороги, диффузная гипомиелинизация белого вещества головного мозга и др. [19]. Большинство пациентов с инфантильной формой БТС не доживают до 4 лет [20].

Клиническая манифестация при ювенильной (подростковой) форме БТС в среднем приходится на возраст 3–5 лет. В юношеском возрасте заболевание проходит в менее тяжелой форме, чем в младенческом возрасте, но имеет более широкий спектр симптомов [21]. Распространенными симптомами являются атаксия, дизартрия, дисфагия, мышечная гипотония и судороги, а также слабость в мышцах конечностей, нарушение

и шаткость походки, которая наблюдается у 88% пациентов [22]. Смерть наступает обычно в возрасте до 15 лет от сопутствующих заболеваний, пневмонии или других инфекций, протекающих у пациентов с БТС в тяжелой форме [18].

Форма заболевания БТС с поздней клинической манифестацией (обычно в возрасте 20 лет и позже) является менее агрессивной и характеризуется более высокой остаточной активностью HexA, составляющей 5–20% от активности фермента в норме [23], что приводит к более медленному прогрессированию нейродегенерации и снижению психомоторного развития [15, 24]. БТС с поздней клинической манифестацией отличается высокой клинической вариабельностью, а продолжительность жизни пациентов сильно варьирует в зависимости от тяжести течения заболевания [1]. Известно, что продолжительность жизни самого пожилого пациента с БТС составила 76 лет [2].

Диагностика болезни Тея-Сакса

Явным диагностическим признаком у пациентов с БТС является наличие «вишневого» пятна макулы на сетчатке глаза. Ганглиозные клетки сетчатки набухают и содержат GM2-ганглиозиды, что видно, в частности, по краям желтого пятна [5]. В результате в зоне желтого пятна появляется «вишневое» пятно, подчеркивающее нормальный цвет сосудистой оболочки глаза, который контрастирует с бледностью набухших ганглиозных клеток в пораженной части сетчатки [4].

Важный метод диагностики БТС — энзимодиагностика для оценки ферментативной активности HexA в плазме с использованием синтетических субстратов: 4-метилумбеллиферил-GlcNAc (англ. 4-methylumbelliferone-GlcNAc, 4MUG) и 4-метилумбеллиферил-GlcNAc-6-сульфата (англ. 4-methylumbelliferyl-GlcNAc-6-sulfate, 4MUGS) [25]. В норме активность общей Hex составляет 523–1865 нмоль/мл/ч., из которой доля фракции HexA — 30,9–72,0% [7].

Одним из наиболее достоверных диагностических методов является скрининг мутаций гена *HEXA* с помощью анализа первичной нуклеотидной последовательности геномной ДНК (секвенирование). Более детальное описание ферментативного и молекулярно-генетических тестов дано в обзоре J. Zhang с соавт. (2019) [26]. Для беременных с высоким риском рождения ребенка с БТС (например, при наличии в семье носителя мутантного гена *HEXA*) может быть предложена пренатальная диагностика с применением вышеописанных тестов: для получения эмбриональных клеток проводят отбор ворсин хориона на 10–12 неделях или амниоцентез на 15–18 неделях беременности [25, 26].

Моделирование болезни Тея-Сакса

Моделирование БТС проводят на мышях и овцах. Первые мыши с моделью БТС были получены в 1995 г. путем нокаута гена *HEXA*. У мышей с нокаутом гена *HEXA* отсутствовала активность HexA, однако накопление GM2-ганглиозидов и образование мембранных цитоплазматических телец в нейронах происходило только в некоторых областях головного мозга, исключая обонятельную луковицу, кору головного мозга и передние рога головного мозга. Мыши с нокаутом гена *HEXA* не проявляли клинических признаков БТС и имели нормальную продолжительность жизни [27]. Разница в накоплении ганглиозидов была обусловлена

различием метаболизма между человеком и мышью: у мышей присутствуют одна или несколько сиалидаз, удаляющих сиаловую кислоту из GM2-ганглиозидов, который впоследствии может гидролизироваться ферментом HexB у *HEXA*-дефицитных мышей [28, 29]. Важно отметить, что у *HEXB*-дефицитных мышей с моделью болезни Сандхоффа, в отличие от *HEXA*-дефицитных мышей, развились нейродегенеративные поражения ЦНС со спастичностью, мышечной слабостью, ригидностью, тремором и атаксией [30, 31]. Таким образом, линия *HEXB*-дефицитных мышей может быть полезна для первоначальной оценки потенциальных методов лечения GM2-ганглиозидоза.

Одним из наиболее подходящих объектов со спонтанно развивающейся БТС являются овцы Якоба, у которых клинические проявления БТС максимально схожи с таковыми у человека [32]. Овцы с БТС страдают атаксией, кортикальной слепотой и нарушением проприоцептивной регуляции движения [33]. Генетические исследования показали, что дефицит активности HexA у овец с БТС связан с однонуклеотидной заменой в 11 экзоне гена *HEXA*, что приводит к замене глицина на аргинин [32].

Методы лечения болезни Тея-Сакса

Основу симптоматического лечения БТС составляют противовоспалительные и противосудорожные препараты для замедления прогрессирования заболевания [34]. В настоящее время исследуется эффективность новых методов лечения БТС: субстрат-редуцирующая терапия (СРТ) [35], трансплантация костного мозга (ТКМ) [36] или пуповинной крови [37] и восстановление экспрессии функционального фермента HexA с помощью генной терапии [25].

Субстрат-редуцирующая терапия. Субстрат-редуцирующая терапия подразумевает использование небольших молекул иминосахара для замедления скорости биосинтеза гликолипидов [38]. Показана эффективность миглустата (N-бутилдиоксиноиримицина) для предотвращения накопления GM2-ганглиозидов [35, 39], который действует как конкурентный ингибитор глюкозилцерамидсинтазы, фермента, катализирующего первый этап синтеза гликофинголипидов, и может проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [40]. При клиническом применении миглустата у 2 пациентов с инфантильной формой БТС наблюдалась значительная концентрация миглустата в спинномозговой жидкости. Использование СРТ не привело к остановке неврологического ухудшения у пациентов: прогрессировали мишечная гипотония и задержка психомоторного развития. Через 9–12 мес. после проведения СРТ у обоих пациентов возникла миоклоническая эпилепсия и выявилась диффузная миелинизация. Также у одного из пациентов появились признаки кортикальной атрофии. Таким образом, была показана низкая эффективность СРТ для предотвращения нейродегенерации в ЦНС при БТС, однако прием миглустата был рекомендован для профилактики макроцефалии [35]. Аналогичные результаты были описаны в клиническом исследовании на 5 пациентах с ювенильной формой БТС. После СРТ с применением миглустата у всех пациентов в течение последующих 30 мес. отмечалось прогрессирование задержки психомоторного развития и нейродегенерации в ЦНС [39].

Заместительная терапия. Заместительная терапия (или терапия очищенными белками) является перспективным методом лечения ряда лизосомных болезней

накопления и уже одобрена для клинического применения при болезни Гоше [41, 42], болезни Фабри [43], болезни Помпе [44] и мукополисахаридозе I, II и VI типов [45–47]. Однако при БТС заместительная терапия не получила широкого клинического применения, что обусловлено трудностями в преодолении ГЭБ молекулами фермента HexA при внутривенном введении [48, 49] и необходимостью синтезировать обе субъединицы фермента HexA [50].

Трансплантация костного мозга и пуповинной крови. Трансплантация костного мозга (ТКМ) применяется для лечения пациентов с различными лизосомными болезнями накопления и обеспечивает миграцию метаболически компетентных гемопоэтических клеток в пораженные заболеванием ткани, что может привести к восполнению дефицита ферментов [5].

В работе J. Jacobs с соавт. (2005) описан клинический случай применения ТКМ с последующей СРТ для лечения пациента с ювенильной формой БТС [36]. Непосредственно после ТКМ у пациента наблюдалось повышение ферментативной активности HexA в лейкоцитах до нормальных значений и незначительное увеличение ферментативной активности в плазме. Через 3 мес. после ТКМ ферментативная активность HexA снизилась и стабилизировалась на уровне ниже нормальных значений, что указывало на смешанный химеризм. В дальнейшем у пациента продолжала прогрессировать задержка психомоторного развития и нейродегенерация в ЦНС. Применение миглустата через 23 мес. после ТКМ также не предотвратило усугубление неврологических нарушений [36].

В работе K. Stepien (2018) описан случай ТКМ от HLA-идентичного сиблинга 15-летнему пациенту с БТС с поздней клинической манифестацией [37]. Через 8 лет после ТКМ сохранилось полное приживление трансплантата, активность HexA в лейкоцитах пациента с БТС была сопоставима с активностью фермента в лейкоцитах здоровых доноров контрольной группы и составила 187 нмоль/мг/ч. Активность HexA в плазме была в три раза меньше нижнего предела активности HexA в норме (50–250 нмоль/мг/ч.) и равнялась 15 нмоль/мг/ч. Также было отмечено отсутствие прогрессирования интенционного тремора после ТКМ [37].

В качестве альтернативного подхода лечения пациентов, у которых нет подходящего донора костного мозга, рассматривается трансплантация пуповинной крови, полученной от частично HLA-идентичных неродственных доноров [51]. Пуповинная кровь человека является важным источником гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и клеток-предшественниц, способных оказывать нейропротекторное действие при дегенеративных процессах [52]. Безопасность трансплантации пуповинной крови была показана в клиническом исследовании у 69 пациентов с лизосомными болезнями накопления, в том числе у 3 пациентов с БТС, и пероксисомными болезнями накопления. Однако не приведены данные об эффективности трансплантации пуповинной крови, которую необходимо подтвердить в дальнейших исследованиях [51].

Генная терапия. Попытки коррекции мутаций гена *HEXA* при помощи генной терапии начались еще в середине 1990 гг. Первыми векторами для доставки гена *HEXA* дикого типа стали аденовирусы. Исследования *in vivo* с использованием нокаутных по гену *HEXA* мышей показали, что при совместном внутривенном введении аденовирусные векторы, кодирующие гены *HEXA* и *HEXB*, преимущественно трансдуцировали клетки печени. Доставка генов *HEXA* и *HEXB* способствовала

восстановлению ферментативной активности HexA в сыворотке крови и периферических тканях [53].

Основная проблема генной терапии БТС — выбор вектора и способа доставки терапевтических генов, позволяющих преодолеть ГЭБ и имеющих минимальное количество побочных эффектов. Главным ограничивающим фактором для успешного применения аденовирусных векторов при терапии заболеваний ЦНС является невозможность преодоления ГЭБ. Кроме этого, иммуногенность аденовирусных векторов и их тропизм к клеткам печени могут привести к накоплению вектора и сверхэкспрессии трансгена в данном органе, что может провоцировать развитие гепатоцеллюлярной опухоли [54].

Перспективным вектором для доставки целевых генов может стать репликационно-дефектный вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1), который способен инфицировать различные типы неделящихся клеток, в том числе нейроны, а также переноситься ретроградным способом к моторным и(или) сенсорным нейронам после инокуляции [55]. Было обнаружено, что введение ВПГ-1, кодирующего ген *HEXA*, во внутреннюю капсулу левого полушария головного мозга мышам с моделью БТС привело к восстановлению ферментативной активности HexA и полному удалению накоплений GM2-ганглиозидов, как в инъецированном, так и в контрольном (правом) полушариях головного мозга, а также в мозжечке и спинном мозге экспериментальных животных в течение 1 мес. после инъекции [56].

Большие успехи были достигнуты в разработке подходов для генной терапии GM2-ганглиозидозов с использованием векторов на основе адено-ассоциированных вирусов (AAB). Было показано, что при внутричерепном введении рекомбинантных AAB серотипов 2/1 или 2/2, кодирующих гены *HEXA* и *HEXB*, мышам с моделью болезни Сандхоффа повышался уровень экзогенного HexA во всех отделах ЦНС без явной цитотоксичности, связанной с использованием AAB, и увеличивалась выживаемость подопытных мышей [25, 57].

Однако векторы на основе AAB имеют ограниченную емкость (от 2,1 до 4,5 т. п. н.) и не могут нести сразу два гена, *HEXA* и *HEXB*, а эффективность котрансдукции значительно меньше, чем трансдукция одной конструкцией. Поскольку для эффективного восстановления секреции отсутствующего гетеродимерного изофермента HexA нужна экспрессия обеих субъединиц, α и β [50], был сконструирован самокомплементарный вектор на основе AAB (вариант 9.47), кодирующий гибридную μ субъединицу (AAB9.47-HEXM), содержащую специфические последовательности как α , так и β субъединиц, необходимые для функционального взаимодействия с комплексом GM2A-GM2-ганглиозида. Было показано, что внутричерепное введение AAB9.47-HEXM снижало накопление GM2-ганглиозидов в головном мозге мышей с моделью БТС [50]. При внутривенном введении AAB9.47-HEXM новорожденным мышам с моделью БТС также отмечалось снижение накопления GM2-ганглиозидов во всех отделах ЦНС [58]. На модели новорожденных мышей с моделью болезни Сандхоффа было обнаружено, что внутривенное введение AAB9.47-HEXM приводило к эффективной трансдукции клеток ЦНС и увеличивало выживаемость мышей в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой [59].

При изучении терапевтической эффективности генной терапии с использованием вектора на основе AAB 8 серотипа (AAB8) овцам породы Якоба с БТС в возрасте 2–4 мес. делали внутричерепные инъекции AAB8-HEXA (группа 1) или AAB8-HEXA+AAB8-HEXB (группа 2). Во всех исследуемых группах после инъекции

терапевтических векторов на основе AAV8 отмечалась задержка проявления симптомов заболевания. В группе 2 (при инъекции овец комбинированным препаратом AAV8-HEXA+AAV8-HEXB) уровень HexA в головном мозге овец повышался в отличие от такового в группе 1. Однако во всех группах наблюдалось лишь незначительное повышение уровня рекомбинантного HexA в спинном мозге овец и отмечалось снижение активации и пролиферации микроглии в головном мозге овец [60]. Полученные авторами данные подтвердились в исследовании, проведенном на кошках (на модели болезни Сандхоффа): была доказана безопасность метода и повышение уровня Hex в головном мозге животных после внутривенной инфузии вектора на основе AAV8, кодирующего видоспецифичные гены HEXA и HEXB [61].

Безопасность применения векторов на основе AAV8, кодирующих видоспецифичные гены HEXA и HEXB, была проанализирована в экспериментах на нормальных киномогусских макаках. У большинства обезьян при внутривенной инфузии AAV8 развивались дискинезия, атаксия и потеря ловкости. Животные, получившие высокую дозу AAV8, в конечном итоге стали апатичными. Гистологический анализ выявил наличие некроза белого и серого вещества вдоль инъекционной дорожки, реактивную сосудистую сеть и присутствие нейронов с гранулированным эозинофильным материалом. Несмотря на нейротоксичность, в таламусе отмечалось значительное увеличение активности Hex [62]. Авторы предположили, что тяжелая нейротоксичность может быть связана со сверхэкспрессией Hex.

Заключение

Для достижения терапевтического эффекта при лечении БТС необходимо увеличение уровня фермента HexA во всех отделах ЦНС. Субстрат-редуцирующая терапия, трансплантация костного мозга и пуповинной крови оказались недостаточно эффективными для предотвращения нейродегенерации в ЦНС, хотя данные методы позволяют частично восстановить активность HexA и уменьшить накопление GM2-ганглиозидов. На стадии разработки находятся методы генной терапии БТС с использованием вирусных векторов для доставки

генов, кодирующих α и β субъединицы фермента HexA. Наиболее перспективным представляется использование векторов на основе AAV, поскольку в экспериментах *in vitro* и *in vivo* уже показана их терапевтическая эффективность.

Исследования векторов на основе AAV внесли большой вклад в развитие методов генной терапии БТС, и в 2018 г. начались клинические исследования (фаза 1) по оценке безопасности применения AAV при лечении БТС. Для доставки вектора на основе AAV в ЦНС был выбран метод комбинированного интраталамического и интратекального введения вируса, обеспечивающий эффективную доставку экзогенного HexA в ткани головного мозга и другие отделы ЦНС. Первые результаты данного исследования были обнародованы в 2019 г. на ежегодной конференции Европейского общества генной и клеточной терапии: генная терапия на основе вектора AAV хорошо переносилась пациентами, и не было зарегистрировано серьезных побочных эффектов, связанных с терапией. Важно отметить, что дефекты в миелинизации происходят в раннем возрасте, поэтому существуют временные ограничения, только в рамках которых генная терапия может привести к положительным результатам и замедлить прогрессирование неврологических ухудшений.

Также представляется актуальным исследование терапевтического потенциала ГСК, генетически модифицированных для сверхэкспрессии HexA, поскольку, помимо восстановления активности недостающего фермента, данные клетки способны оказывать нейропротекторное действие при дегенеративных процессах, которые наблюдаются у пациентов с БТС, а стволовые клетки могут предотвращать активацию микроглии и, следовательно, дальнейшую нейродегенерацию.

Благодарности

Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета и за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Семенова О.В., Ключников С.А., Павлов Э.В. и др. Клинический случай болезни Тея-Сакса с поздним началом. Нервные болезни 2016; 3: 57–60. [Semenova O.V., Klyushnikov S.A., Pavlov E.V. et al. Clinical case of late onset Tay-Sachs disease. Nervous diseases 2016; 3: 57–60].
2. Sandhoff K., Harzer K. Gangliosides and gangliosidoses: principles of molecular and metabolic pathogenesis. J. Neurosci. 2013; 33(25): 10195–208.
3. Мавлиханова А.А., Павлов В.Н., Ян Б. и др. Ганглиозиды и их значение в развитии и функционировании нервной системы. Медицинский вестник Башкортостана 2017; 12(4): 121–6. [Mavlikhanova A.A., Pavlov V.N., Yang B. et al. Gangliosides and their significance in the development and functioning of the nervous system. Medical Bulletin of Bashkortostan 2017; 12(4): 121–6].
4. Ferreira C.R., Gahl W.A. Lysosomal storage diseases. Translational science of rare diseases 2017; 2(1–2): 1–71.
5. Solovyeva V.V., Shaimardanova A.A., Chulpanova D.S. et al. New Approaches to Tay-Sachs Disease Therapy. Front. Physiol. 2018; 9: 1663.
6. Weitz G., Proia R.L. Analysis of the glycosylation and phosphorylation of the alpha-subunit of the lysosomal enzyme, beta-hexosaminidase A, by site-directed mutagenesis. J. Biol. Chem. 1992; 267(14): 10039–44.
7. Руденская Г.Е., Букина А.М., Букина Т.М. и др. Ганглиозидоз GM2 у взрослых: первое российское наблюдение и обзор литературы. Медицинская генетика 2015; 14(12): 39–46. [Rudenskaya G.E., Bukina A.M., Bukina T.M. et al. GM2 gangliosidosis in adults: first Russian case report and literature review. Medical genetics 2015; 14(12): 39–46].
8. Mahuran D.J. Biochemical consequences of mutations causing the GM2 gangliosidoses. Biochim. Biophys. Acta 1999; 1455(2–3): 105–38.
9. Myerowitz R. Tay-Sachs disease-causing mutations and neutral polymorphisms in the Hex A gene. Hum. Mutat. 1997; 9(3): 195–208.
10. Wada R., Tiffet C.J., Proia R.L. Microglial activation precedes acute neurodegeneration in Sandhoff disease and is suppressed by bone marrow transplantation. PNAS USA 2000; 97(20): 10954–9.
11. Myerowitz R., Lawson D., Mizukami H. et al. Molecular pathophysiology in Tay-Sachs and Sandhoff diseases as revealed by gene expression profiling. Hum. Mol. Genet. 2002; 11(11): 1343–50.
12. Wu Y.P., Proia R.L. Deletion of macrophage-inflammatory protein 1 alpha retards neurodegeneration in Sandhoff disease mice. PNAS USA 2004; 101(22): 8425–30.
13. Lew R.M., Burnett L., Proos A.L. et al. Tay-Sachs disease: current perspectives from Australia. Appl. Clin. Genet. 2015; 8: 19–25.
14. Adam M.P., Ardinger H.H., Pagon R.A. et al., editors. Hexosaminidase A deficiency. Seattle (WA): University of Washington; 1999, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1218/>.
15. Osher E., Fattal-Valevski A., Sagie L. et al. Effect of cyclic, low dose pyrimethamine treatment in patients with late onset Tay Sachs: an open label, extended pilot study. Orphanet J. Rare Dis. 2015; 10: 45.
16. Patterson M.C. Gangliosidoses. Handb. Clin. Neurol. 2013; 113: 1707–8.
17. Cheema H.A., Waheed N., Saeed A. Unusual case of Juvenile Tay-Sachs disease. BMJ Case Rep. 2019; 12(9): 230140.
18. Nestrasil I., Ahmed A., Utz J.M. et al. Distinct progression patterns of brain disease in infantile and juvenile gangliosidoses: Volumetric quantitative MRI study. Mol. Genet. Metab. 2018; 123(2): 97–104.
19. Jarnes Utz J.R., Kim S., King K. et al. Infantile gangliosidoses: Mapping a timeline of clinical changes. Mol. Genet. Metab. 2017; 121(2): 170–9.
20. Bley A.E., Giannikopoulos O.A., Hayden D. et al. Natural history of infantile G(M2) gangliosidosis. Pediatrics 2011; 128(5): e1233–41.

21. Regier D.S., Proia R.L., D'Azzo A. et al. The GM1 and GM2 gangliosidoses: natural history and progress toward therapy. *Pediatric Endocrinology Reviews* 2016; 13 Suppl 1: 663–73.
22. Maegawa G.H., Stockley T., Tropak M. et al. The natural history of juvenile or subacute GM2 gangliosidosis: 21 new cases and literature review of 134 previously reported. *Pediatrics* 2006; 118(5): e1550–62.
23. Sandhoff K., Christomanou H. Biochemistry and genetics of gangliosidoses. *Hum. Genet.* 1979; 50(2): 107–43.
24. Deik A., Saunders-Pullman R. Atypical presentation of late-onset Tay-Sachs disease. *Muscle & Nerve* 2014; 49(5): 768–71.
25. Cachon-Gonzalez M.B., Wang S.Z., McNair R. et al. Gene transfer corrects acute GM2 gangliosidosis — potential therapeutic contribution of perivascular enzyme flow. *Mol. Ther.* 2012; 20(8): 1489–500.
26. Zhang J., Chen H., Kornreich R. et al. Prenatal diagnosis of Tay-Sachs disease. *Methods Mol. Biol.* 2019; 1885: 233–50.
27. Taniike M., Yamanaka S., Proia R.L. et al. Neuropathology of mice with targeted disruption of Hexa gene, a model of Tay-Sachs disease. *Acta Neuropathol.* 1995; 89(4): 296–304.
28. Yuziuk J.A., Bertoni C., Beccari T. et al. Specificity of mouse GM2 activator protein and beta-N-acetylhexosaminidases A and B. Similarities and differences with their human counterparts in the catabolism of GM2. *J. Biol. Chem.* 1998; 273(1): 66–72.
29. Seyrantepe V., Demir S.A., Timur Z.K. et al. Murine sialidase Neu3 facilitates GM2 degradation and bypass in mouse model of Tay-Sachs disease. *Exp. Neurol.* 2018; 299(Pt A): 26–41.
30. Sango K., Yamanaka S., Hoffmann A. et al. Mouse models of Tay-Sachs and Sandhoff diseases differ in neurologic phenotype and ganglioside metabolism. *Nat. Genet.* 1995; 11(2): 170–6.
31. Phaneuf D., Wakamatsu N., Huang J.Q. et al. Dramatically different phenotypes in mouse models of human Tay-Sachs and Sandhoff diseases. *Hum. Mol. Genet.* 1996; 5(1): 1–14.
32. Torres P.A., Zeng B.J., Porter B.F. et al. Tay-Sachs disease in Jacob sheep. *Mol. Genet. Metab.* 2010; 101(4): 357–63.
33. Porter B.F., Lewis B.C., Edwards J.F. et al. Pathology of GM2 gangliosidosis in Jacob sheep. *Vet. Pathol.* 2011; 48(4): 807–13.
34. Hayase T., Shimizu J., Goto T. et al. Unilaterally and rapidly progressing white matter lesion and elevated cytokines in a patient with Tay-Sachs disease. *Brain Dev.* 2010; 32(3): 244–7.
35. Bembi B., Marchetti F., Guerci V.I. et al. Substrate reduction therapy in the infantile form of Tay-Sachs disease. *Neurology* 2006; 66(2): 278–80.
36. Jacobs J.F., Willemsen M.A., Groot-Loonen J.J. et al. Allogeneic BMT followed by substrate reduction therapy in a child with subacute Tay-Sachs disease. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 36(10): 925–6.
37. Stepien K.M., Lum S.H., Wraith J.E. et al. Haematopoietic stem cell transplantation arrests the progression of neurodegenerative disease in late-onset Tay-Sachs disease. *JIMD reports* 2018; 41: 17–23.
38. Platt F.M., Jeyakumar M., Andersson U. et al. Substrate reduction therapy in mouse models of the glycosphingolipidoses. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 2003; 358(1433): 947–54.
39. Maegawa G.H., Banwell B.L., Blaser S. et al. Substrate reduction therapy in juvenile GM2 gangliosidosis. *Mol. Genet. Metab.* 2009; 98(1–2): 215–24.
40. Boomkamp S.D., Rountree J.S., Neville D.C. et al. Lysosomal storage of oligosaccharide and glycosphingolipid in imino sugar treated cells. *Glycoconj. J.* 2010; 27(3): 297–308.
41. Barton N.W., Brady R.O., Dambrosia J.M. et al. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency-macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease. *N. Engl. J. Med.* 1991; 324(21): 1464–70.
42. Connock M., Burls A., Frew E. et al. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of enzyme replacement therapy for Gaucher's disease: a systematic review. *Health Technology Assessment* 2006; 10(24): iii-iv, ix-136.
43. Eng C.M., Guffon N., Wilcox W.R. et al. Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A replacement therapy in Fabry's disease. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345(1): 9–16.
44. Klinge L., Straub V., Neudorf U. et al. Enzyme replacement therapy in classical infantile pompe disease: results of a ten-month follow-up study. *Neuropediatrics* 2005; 36(1): 6–11.
45. Wraith J.E., Clarke L.A., Beck M. et al. Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, multinational study of recombinant human alpha-L-iduronidase (Iaronidase). *J. Pediatr.* 2004; 144(5): 581–8.
46. Muenzer J., Lamsa J.C., Garcia A. et al. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): a preliminary report. *Acta Paediatr.* 2002; 91(439): 98–9.
47. Harmatz P., Whitley C.B., Waber L. et al. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). *J. Pediatr.* 2004; 144(5): 574–80.
48. Jakobkiewicz-Banecka J., Wegrzyn A., Wegrzyn G. Substrate deprivation therapy: a new hope for patients suffering from neuronopathic forms of inherited lysosomal storage diseases. *J. Appl. Genet.* 2007; 48(4): 383–8.
49. Sorrentino N.C., D'Orsi L., Sambri I. et al. A highly secreted sulphamidase engineered to cross the blood-brain barrier corrects brain lesions of mice with mucopolysaccharidosis type IIIa. *EMBO Mol. Med.* 2013; 5(5): 675–90.
50. Tropak M.B., Yonekawa S., Karumuthil-Melethil S. et al. Construction of a hybrid beta-hexosaminidase subunit capable of forming stable homodimers that hydrolyze GM2 ganglioside in vivo. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 2016; 3: 15057.
51. Martin P.L., Carter S.L., Kernan N.A. et al. Results of the cord blood transplantation study (COBLT): outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric patients with lysosomal and peroxisomal storage diseases. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2006; 12(2): 184–94.
52. Galieva L.R., Mukhamedshina Y.O., Arkhipova S.S. et al. Human umbilical cord blood cell transplantation in neuroregenerative strategies. *Front. Pharmacol.* 2017; 8: 628.
53. Guidotti J.E., Mignon A., Haase G. et al. Adenoviral gene therapy of the Tay-Sachs disease in hexosaminidase A-deficient knock-out mice. *Hum. Mol. Genet.* 1999; 8(5): 831–8.
54. Nakamura T., Sato K., Hamada H. Reduction of natural adenovirus tropism to the liver by both ablation of fiber-coxsackievirus and adenovirus receptor interaction and use of replaceable short fiber. *J. Virol.* 2003; 77(4): 2512–21.
55. Wolfe D., Goins W.F., Yamada M. et al. Engineering herpes simplex virus vectors for CNS applications. *Exp. Neurol.* 1999; 159(1): 34–46.
56. Martino S., Marconi P., Tancini B. et al. A direct gene transfer strategy via brain internal capsule reverses the biochemical defect in Tay-Sachs disease. *Hum. Mol. Genet.* 2005; 14(15): 2113–23.
57. Cachon-Gonzalez M.B., Wang S.Z., Lynch A. et al. Effective gene therapy in an authentic model of Tay-Sachs-related diseases. *PNAS USA* 2006; 103(27): 10373–8.
58. Karumuthil-Melethil S., Nagabhushan Kalburgi S., Thompson P. et al. Novel vector design and hexosaminidase variant enabling self-complementary adeno-associated virus for the treatment of Tay-Sachs disease. *Hum. Gene Ther.* 2016; 27(7): 509–21.
59. Osmon K.J., Woodley E., Thompson P. et al. Systemic gene transfer of a hexosaminidase variant using an scAAV9.47 vector corrects GM2 gangliosidosis in Sandhoff mice. *Hum. Gene Ther.* 2016; 27(7): 497–508.
60. Gray-Edwards H.L., Randle A.N., Maitland S.A. et al. Adeno-Associated Virus Gene Therapy in a Sheep Model of Tay-Sachs Disease. *Hum. Gene Ther.* 2018; 29(3): 312–26.
61. Bradbury A.M., Cochran J.N., McCurdy V.J. et al. Therapeutic response in feline Sandhoff disease despite immunity to intracranial gene therapy. *Mol. Ther.* 2013; 21(7): 1306–15.
62. Golebiowski D., van der Bom I.M.J., Kwon C.S. et al. Direct intracranial injection of AAVrh8 encoding monkey beta-N-acetylhexosaminidase causes neurotoxicity in the primate brain. *Hum. Gene Ther.* 2017; 28(6): 510–22.

Поступила: 10.01.2020