

Е.Ю. Захарова^{1, 3}, Е.Ю. Воскобоева¹, А.Н. Семячкина², Н.Д. Вашакмадзе^{2, 4},
А.И. Гамзатова⁵, С.В. Михайлова^{1, 3}, С.И. Куцев¹

¹ Медико-генетический научный центр, Москва, Российская Федерация

² Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева
Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова,
Москва, Российская Федерация

³ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования,
Москва, Российская Федерация

⁴ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

⁵ Республиканский медико-генетический центр, Махачкала, Российская Федерация

Современные подходы к лечению синдрома Хантера

Контактная информация:

Захарова Екатерина Юрьевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией наследственных болезней обмена веществ
ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»

Адрес: 125167, Москва, ул. Москворечье, д. 1, тел.: +7 (499) 324-20-04, e-mail: labnbo@yandex.ru

Статья поступила: 30.06.2018 г., принята к печати: 28.07.2018 г.

Мукополисахаридоз, тип II (МПС II; синдром Хантера) — X-сцепленное наследственное заболевание, связанное с дефектом идуронат-2-сульфатазы. Недостаточность этого фермента приводит к накоплению дерматан- и гепарансульфата в разных тканях. Клинические проявления МПС II разнообразны по степени тяжести и вовлечения в патологический процесс различных органов. Выделяют два основных клинических фенотипа — промежуточный и тяжелый вследствие повреждения центральной нервной системы. В обзоре приведены данные по существующим возможностям терапии синдрома Хантера и перспективам развития новых методов лечения. На данном этапе доступны внутривенная ферментная заместительная терапия, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток и симптоматическое хирургическое лечение. Внутривенная ферментная заместительная терапия не позволяет ферменту проникнуть через гематоэнцефалический барьер, поэтому неврологические симптомы болезни в результате лечения не компенсируются; трансплантация гемопоэтических стволовых клеток может воздействовать положительно на некоторые неврологические нарушения, но имеет высокий риск посттрансплантационных осложнений. Интратекальное введение фермента, субстратредуцирующая терапия, применение фармакологических шаперонов и генная терапия находятся в стадии изучения и клинических исследований для терапии тяжелых форм МПС II. Крайне необходимо развитие новых подходов к лечению синдрома Хантера и других наследственных болезней с поражением нервной системы в ближайшем будущем.

Ключевые слова: синдром Хантера, мукополисахаридоз II типа, ферментная заместительная терапия, генотерапия, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

(Для цитирования: Захарова Е.Ю., Воскобоева Е.Ю., Семячкина А.Н., Вашакмадзе Н.Д., Гамзатова А.И., Михайлова С.В., Куцев С.И. Современные подходы к лечению синдрома Хантера. *Педиатрическая фармакология*. 2018; 15 (4): 324–332. doi: 10.15690/pf.v15i4.1947)

ВВЕДЕНИЕ

Прошло 100 лет с момента первого описания синдрома Хантера, 10 лет — с начала широкого применения ферментной заместительной терапии (ФЗТ) этой болезни и менее года со дня первого в истории медицины применения технологии редактирования генома пациенту с этим редким заболеванием. Первым в истории медицины человеком, принявшим участие в этом исследовании, стал 44-летний пациент с синдромом Хантера [1].

Синдром Хантера, или мукополисахаридоз II типа, (МПС II, OMIM 309900) — один из 11 известных типов мукополисахаридозов с X-сцепленным типом наследования [2]. Заболевание обусловлено снижением активности фермента идуронат-2-сульфатазы (iduronate-2-sulfatase, IDS), участвующего в расщеплении дерматансульфата и гепарансульфата, что приводит к накоплению гликозаминогликанов в разных тканях организма и формированию мультисистемной патологии [3]. Заболевание крайне редкое, его частота, по данным разных исследований, составляет

1:100 000–170 000 среди новорожденных мальчиков [4, 5]. С клинической точки зрения выделяют тяжелую форму с поражением центральной нервной системы и более мягкий фенотип — без выраженных неврологических нарушений.

В обзоре приведены данные по современным подходам к лечению синдрома Хантера и группы МПС в целом.

ЛЕЧЕНИЕ МУКОПОЛИСАХАРИДОЗОВ

Основная тенденция в разработке подходов к лечению МПС — поиск препаратов, которые бы не только смягчали основные экстраневральные проявления заболевания, но и позволяли бы корректировать тяжелые неврологические нарушения [6]. По мнению многих исследователей, для достижения оптимального эффекта лечение должно начинаться на досимптомной стадии болезни, до развития необратимого повреждения центральной нервной системы [7]. Обсуждается необходимость раннего начала терапии и в связи с этим возможность проведения массового скрининга новорожденных. Получены результаты по повышению продолжительности

и качества жизни при ФЗТ, и, кроме того, выполнены первые работы с использованием генотерапии и других методов лечения при МПС [8–10].

Ферментная заместительная терапия

С января 2007 г. для лечения синдрома Хантера применяют ферментную заместительную терапию. Рекомбинантный фермент идурсульфазу (Элапраза; Shire Human Genetic Therapies, Лексингтон, Массачусетс, США) получают из перевиваемой культуры клеток человека HT-1080 генетически модифицированным путем: в промотор гена *IDS* с целью повышения его экспрессии вводится активирующая последовательность. С 2008 г. препарат идурсульфазы зарегистрирован и применяется для лечения пациентов на территории Российской Федерации, а его безопасность и эффективность для лечения экстраневральных проявлений МПС II уже продемонстрированы в ряде исследований [8–10].

Реакции, которые могут возникать при инфузии идурсульфазы, сопоставимы с таковыми при применении других препаратов для ФЗТ. Наиболее распространенными из них являются реакции гиперчувствительности, в частности повышение температуры, головная боль или крапивница. Такие реакции обычно контролируются путем замедления скорости инфузии и введения антигистаминов и/или глюкокортикостероидов [11]. Известно, что у значительного числа пациентов с МПС, которые получают ФЗТ, появляются IgG-антитела к ферментному препарату, не влияющие на эффективность терапии, но повышающие риск инфузионных реакций [12, 13].

Один из последних анализов Международного регистра больных синдромом Хантера (Hunter Outcome Survey, HOS) убедительно продемонстрировал повышение продолжительности и качества жизни пациентов с МПС II на фоне ФЗТ [13].

Исследования, проведенные в Корею, способствовали появлению еще одного препарата для ФЗТ синдрома Хантера — идурсульфазы бета (Хантеразы, Green Cross Corp., Йонъин, Корея). Идурсульфазу бета получают из

рекомбинантных клеток яичников китайского хомячка линии СНО, в которые перенесена плаزمиды, кодирующая белок из 550 аминокислот человеческой идуронат-2-сульфатазы, включая сигнальную последовательность из 25 аминокислот. Этот препарат показан для пациентов старше 6 лет, но сравнительно недавно была завершена IV фаза клинических испытаний у детей более раннего возраста. В 2018 г. этот препарат был зарегистрирован на территории Российской Федерации. В настоящее время существует ограниченное число публикаций, посвященных сравнению эффективности этих двух препаратов для ФЗТ синдрома Хантера [14–17].

Оба препарата, по-видимому, сходно влияют на коррекцию экстраневральных нарушений. Однако, необходимы дополнительные, более продолжительные исследования на группах пациентов с разными формами заболевания, чтобы получить достоверные сравнительные представления об эффективности этих лекарственных средств.

В ряде работ подчеркивается важность раннего начала ФЗТ и отмечается негативный эффект от прерывания или прекращения ФЗТ при многих лизосомных болезнях накопления [18–20].

Одним из существенных минусов ФЗТ является непроницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) для ферментного препарата, что принципиально для лечения неврологических осложнений этой группы заболеваний, однако некоторые улучшения неврологического статуса у пациентов все же могут наблюдаться. Это объясняется снижением уровня гипоксии вследствие улучшения функции дыхания и микроциркуляции в связи с выведением гликозаминогликанов из мягких тканей. Обсуждается также возможность применения более высоких доз фермента для лечения неврологических осложнений у больных МПС, так как на животных моделях с МПС при применении высоких доз препарата было показано проникновение фермента через гематоэнцефалический барьер. Тем не менее этот подход является на сегодня довольно дискуссионным [21].

Ekaterina Yu. Zakharova^{1, 3}, Elena Yu. Voskoboeva¹, Alla N. Semyachkina², Nato D. Vashakmadze^{2, 4}, Amina I. Gamzatova⁵, Svetlana V. Mikhailova^{1, 3}, Sergey I. Kutsev¹

¹ Medical Genetics Research Center, Moscow, Russian Federation

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

³ Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

⁴ National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

⁵ Republican Medical Genetic Center, Makhachkala, Russian Federation

Current Approaches to the Treatment of Hunter Syndrome

Mucopolysaccharidosis type II (MPS II; Hunter syndrome) is an X-linked hereditary disorder associated with a deficiency of iduronate-2-sulfatase (IDS). IDS deficiency provokes the accumulation of dermatan sulfate and heparan sulfate in different tissues. Clinical manifestations of MPS II are heterogeneous and involve different organs. Two phenotypes are distinguished: attenuated or severe; classification is based on central nervous system impairment signs. The review provides data on the current treatments opportunities for Hunter syndrome and perspectives for development of new therapeutic approaches. Current treatment includes intravenous enzyme replacement therapy (ERT), hematopoietic stem cell transplantation, and symptomatic treatment. Intravenous enzyme replacement therapy does not promote the enzyme to penetrate the blood-brain barrier which leads to the treatment failure for neurological signs and symptoms; hematopoietic stem cell transplantation has high risk of post-transplantation complications but can improve some neurological problems. Intrathecal ERT, substrate reduction, pharmacological chaperones, and gene therapy are currently under investigation as therapies for severe form of MPS II. Development of new approaches to treatment of Hunter syndrome and other hereditary diseases is extremely vital.

Key words: Hunter syndrome, mucopolysaccharidosis type II, enzyme replacement therapy, gene therapy, hematopoietic stem cell transplantation.

(For citation: Ekaterina Yu. Zakharova, Elena Yu. Voskoboeva, Alla N. Semyachkina, Nato D. Vashakmadze, Amina I. Gamzatova, Svetlana V. Mikhailova, Sergey I. Kutsev. Current approaches to the treatment of Hunter syndrome. *Pediatricskaya farmakologiya — Pediatric pharmacology*. 2018; 15 (4): 324–332. doi: 10.15690/pf.v15i4.1947)

Исследователи предлагают ряд подходов для решения проблемы преодоления гематоэнцефалического барьера, среди которых наиболее значимыми являются биохимическая модификация фермента и влияние на рецепторы клеток ГЭБ [22]. Интратекальное введение фермента применяли как на животных моделях, так и в клинических исследованиях [23], однако данные об отдаленных последствиях терапии отсутствуют, протокол такого рода лечения не разработан, к тому же остается более высоким риск осложнений по сравнению с использованием стандартного внутривенного введения препарата. Кроме того, распределение фермента при его введении в спинной мозг может быть неравномерным, а вероятность получения положительного эффекта при уже развившихся неврологических нарушениях, по мнению ряда исследователей, представляется сомнительной [24, 25].

В рамках 2-й фазы клинических испытаний находится препарат, модификации в котором позволяют ферменту проникать через гематоэнцефалический барьер (AGT-182-101; идентификатор: ClinicalTrials.gov: NCT02262338). Этот методический подход, получивший

название «троянский конь», основан на использовании различных рецепторов для переноса белков через ГЭБ. Так, для МПС II применяют моноклональные антитела против человеческого инсулинового рецептора, объединенные с ферментом IDS, что позволяет доставить фермент через рецептор инсулина к нервным клеткам [26]. Обсуждается также возможность доставки фермента через гематоэнцефалический барьер с помощью использования других рецепторов [27, 28].

Симптоматическое лечение

Несмотря на все успехи, достигнутые в лечении МПС, симптоматической терапии принадлежит важная роль в поддержании качества и продолжительности жизни, смягчении основных клинических проявлений и профилактике осложнений. Мультисистемность поражения при МПС диктует необходимость мультидисциплинарного подхода при обследовании и лечении пациентов с данной патологией. Примеры симптоматической помощи приведены в табл. Следует заметить, что из медикаментозных средств наиболее часто используются гепатопротекторы,

Таблица. Симптоматическое лечение мукополисахаридозов

Table. Symptomatic treatment of mucopolysaccharidosis

Системы органов	Симптомы	Лечение
Орган зрения	Помутнение роговицы	Избегать прямого воздействия солнечных лучей; трансплантация роговицы
	Глаукома	β -блокаторы; хирургическое лечение
Орган слуха	Частые отиты	Антибактериальная терапия, хирургическое лечение
	Нейросенсорная тугоухость	Слухопротезирование
Зубочелюстная система	Кариес, абсцесс	Гигиена полости рта, удаление зубов
Дыхательная система	Обструкция верхних дыхательных путей	Хирургическое лечение (тонзиллэктомия, аденотомия, установление трахеостомы)
	Апноэ сна	Кислородотерапия, CPAP
	Рестриктивная болезнь легких	Кислородотерапия, CPAP
Сердечно-сосудистая система	Кардиомиопатия	Сердечные препараты
	Пороки клапанной системы	Сердечные препараты, пластика сердечных клапанов
Желудочно-кишечный тракт	Диарея	Препараты, улучшающие моторику желудочно-кишечного тракта
	Гиперсаливация	Хирургическая реканализация сливаторных протоков
Центральная нервная система	Гидроцефалия	Вентрикулоперитонеальное или вентрикулоатриальное шунтирование
	Миелопатия	Хирургическая декомпрессия
	Судороги	Антиэпилептические препараты
	Нарушения поведения	Терапия, направленная на коррекцию поведения
	Нарушения сна	Медикаментозное лечение, направленное на коррекцию сна
	Умственная отсталость	Ноотропная, нейротрофическая терапия
Периферическая нервная система	Туннельный синдром карпальной области	Хирургическая декомпрессия
Костно-суставная система	Нестабильность атланта-аксиального сочленения	Хирургическая декомпрессия
	Дисплазия тазобедренных суставов	Анальгетики, хирургическая ортопедическая коррекция
	Кифоз/кифосколиоз	Корсеты, ортопедическая хирургическая коррекция
	Контрактуры суставов	Физиотерапевтическое лечение и ортезы
	Вальгусная деформация конечностей	Остеотомия

Примечание. CPAP (от англ. constant positive airway pressure) — режим искусственной вентиляции легких постоянным положительным давлением.

Note. CPAP — constant positive airway pressure.

актиконвульсанты, сердечно-сосудистые и противоспазмолитические средства [9]. Немедикаментозная терапия включает лечебную физкультуру, направленную на укрепление мышечного корсета и уменьшение нагрузки на позвоночник и суставы, а также курсы общего массажа и бальнеотерапию (ванны с морской солью и грязелечение) [29].

Из хирургических вмешательств наиболее часто выполняются антиглаукоматозные операции, грыжесечения, аденотонзиллэктомии, шунтирование головного мозга при гидроцефалии, трахеостомии, операции по поводу карпального туннельного синдрома, протезирование клапанов сердца и тазобедренного сустава [30].

При рецидивирующих отитах, частых респираторных заболеваниях верхних и нижних дыхательных путей используется симптоматическая и антибактериальная терапия, по показаниям проводят хирургическое лечение. Обструктивные апноэ сна требуют аденотомии/тонзиллэктомии, а при неэффективности — оксигенотерапии.

Коррекция сердечно-сосудистой недостаточности, артериальной гипертензии проводится стандартными методами лечения, принятыми в кардиологии. Протезирование клапанов сердца выполняется по показаниям [30].

Для лечения поведенческих нарушений используются седативные средства, транквилизаторы, корректоры поведения. При симптоматической эпилепсии назначаются антиконвульсанты. Подбор препарата осуществляется в зависимости от вида приступов и локализации очага патологической активности [30, 31].

В случае грубого нарушения глотания, а также при частых бронхолегочных инфекциях (бронхите или пневмонии) аспирационного генеза питание должно осуществляться только через назогастральный зонд, показано либо постоянное применение зонда, либо постановка гастростомы [30].

При первых симптомах сдавления спинного мозга следует незамедлительно рассмотреть вопрос о декомпрессирующей операции из-за опасности необратимых неврологических нарушений. При сообщающейся гидроцефалии показано вентрикуло-перитонеальное шунтирование [31].

К улучшению нервной проводимости в кистях рук (по результатам электронейромиографии) приводит декомпрессия медиального нерва [30].

Ортопедическая коррекция нарушения осанки и тугоподвижности суставов помимо нехирургических методов включает физиопроцедуры, в том числе с использованием ортопедических устройств. Хирургическая замена тазобедренного или коленного сустава, исправление оси нижней конечности — по показаниям [30, 31].

В комплекс симптоматических воздействий обязательно входит персонализированный курс реабилитации, включающий физиотерапевтические процедуры (магнитотерапию, термотерапию, парафиновые аппликации, ударно-волновую терапию, метод биологической обратной связи и др.), массаж, бальнеотерапию (ванны с морской солью и грязелечение), лечебную физкультуру, а также психолого-педагогическую помощь и активную иммунизацию.

Фармакологические шапероны

Довольно оптимистичные результаты были получены при применении фармакологических шаперонов при некоторых лизосомных болезнях накопления [32]. В одной из недавних работ сульфатированный диса-

харид — Δ -ненасыщенная 2-сульфовая кислота N-сульфоглюкозамин (Δ -unsaturated 2-sulfouronic acid-N-sulfoglucosamine, D2SO) — рассматривается как возможный кандидат для использования в качестве фармакологического шаперона в терапии больных МПС II. Показано, что D2SO повышает активность фермента IDS в культуре клеток пациентов. На клеточной линии HEK293T констатировано повышение активности фермента при шести различных мутациях гена *IDS* [33].

Применение фармакологических шаперонов ограничено определенным типом мутаций, но с учетом разнообразия их спектра при синдроме Хантера данный подход вряд ли сможет занять приоритетное место для лечения этого заболевания.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) уже многие годы с успехом применяется для лечения тяжелой формы МПС I (синдром Гурлера). Раннее применение (до 2,5 лет) этого метода лечения позволяет предотвратить развитие тяжелого неврологического дефицита [34]. Научная основа ТГСК при лизосомных болезнях накопления сходная: донорские стволовые клетки проникают через гематоэнцефалический барьер и дают начало клеткам глии, способным вырабатывать недостающий фермент с последующим захватом его окружающими клетками. Однако, кинетика миграции и дифференцировки клеточных элементов глии, секреции и распределения фермента могут различаться при разных типах МПС. На этом основании ТГСК довольно продолжительное время не рассматривалась в качестве возможного подхода для лечения болезни Хантера.

В первых исследованиях пациентам с МПС II ТГСК были проведены преимущественно в стадии развернутой клинической картины и в более старшем возрасте по сравнению с пациентами с МПС I [35].

В 2017 г. A. Barth и соавт. [36] опубликовали результаты клинического наблюдения за пациентом в возрасте 7 лет, которому была проведена трансплантация клеток пуповинной крови на 70-й день жизни: у мальчика нет отставания в психическом и моторном развитии, отмечаются умеренно выраженный множественный дизостоз и снижение слуха. В наблюдении приведены данные о его родственниках с МПС II, которым не проводилось лечение: родной брат и дядя по материнской линии страдают тяжелой формой болезни с выраженными неврологическими нарушениями и патологией скелета [36].

В работе N. Guffon и соавт. [37] представлены результаты наблюдения за 8 пациентами в возрасте от 3 до 16 лет, которым была проведена ТГСК. Период наблюдения за этими больными составил от 7 до 17 лет. Анализ результатов наблюдения показал увеличение выживаемости пациентов с МПС II, стабилизацию сердечно-сосудистых изменений, нормализацию размеров печени и селезенки, повышение подвижности суставов, улучшение слуха и/или остановку прогрессирования тугоухости. Динамика изменений нейрокогнитивных функций была различной и во многом зависела от состояния нервной системы на момент проведения трансплантации, но в целом была положительной [37].

В другое исследование было включено 34 пациента с МПС (12 из них с МПС II). Оценка эффективности проводилась через 2–6 лет после трансплантации: было показано улучшение моторных и речевых навыков, что, по мнению авторов, свидетельствовало о положитель-

ном влиянии ТГСК на когнитивные функции при МПС II. Влияние на экстраневральные симптомы практически соответствовало таковому при ФЗТ [38].

Несколько больших клинических исследований эффективности ТГСК проведены японскими учеными. Их позиция довольно однозначна: ТГСК показана пациентам с МПС II типа, так как позволяет стабилизировать неврологические симптомы, а в случае тяжелых форм — предотвратить развитие выраженных неврологических нарушений.

В опубликованных F. Kubaski и соавт. [39] результатах метаанализа приведены данные о 146 пациентах после ТГСК (27 случаев представляли собой собственные наблюдения автора и 119 ранее опубликованных в других работах случаев) в сравнении с пациентами на ФЗТ ($n=51$). Возраст проведения ТГСК составил, соответственно, от 10 мес до 19,8 года и от 2 до 21,4 года. Большинство пациентов после трансплантации показали значительное улучшение соматических функций, подвижности суставов по сравнению с группой пациентов, находящихся на ФЗТ. Уровень гликозаминогликанов в крови снижился как при проведении ФЗТ, так и после ТГСК. Кроме того, у пациентов после ТГСК по результатам магнитно-резонансной томографии не наблюдалось прогрессирования изменений головного мозга по сравнению с пациентами, получающими ФЗТ. Авторы отмечают, что протоколы проведения ТГСК претерпели значительные модификации в последние годы, при этом процедура стала более безопасной, а выживаемость пациентов с наследственными заболеваниями значительно выросла. Так, из 27 пациентов, которым ТГСК была проведена в последние 5–10 лет, никто не погиб в результате постоперационных осложнений. Реакция трансплантат против хозяина наблюдалась только в 8 (9%) из 85 опубликованных случаев, 9 (8%) пациентов погибли в результате развития трансплантатассоциированных осложнений [39].

В работе A. Тапака и соавт. [40] период наблюдения за 21 пациентом составил $9,6 \pm 3,5$ года. Анализировались повседневная активность (ADL), показатели IQ, данные магнитно-резонансной томографии головного мозга, степень регургитации клапанов, количество экскретируемых гликозаминогликанов. Сравнительный анализ показал, что ТГСК способствовала уменьшению внутричерепного давления (у 9 из 17 больных) и размеров желудочков мозга (у 4 из 17), стабилизации атрофических процессов в тканях головного мозга (у 11 из 17), уменьшению степени регургитации клапанов сердца (у 20 из 63) и снижению содержания гликозаминогликанов в моче. Ухудшение речевого развития выявлено у 12 из 19 пациентов без лечения и у 1 из 7 после ТГСК. Авторы подчеркивают, что положительный эффект ТГСК оказался наиболее выраженным, когда операция проводилась на ранних стадиях развития болезни, еще до формирования атрофических процессов головного мозга и при незначительном повреждении клапанов сердца. На этом основании исследователи делают вывод, что ТГСК для пациентов с МПС II должна быть широко показана на ранних стадиях болезни [40].

Пока не все эксперты готовы рекомендовать ТГСК больным МПС II в качестве первой линии терапии, как, например, при синдроме Гурлер. Однако, вполне вероятно, что для пациентов раннего возраста с тяжелой мутацией, например с полной делецией гена, вопрос о ТГСК может быть решен положительно при условии предварительного обсуждения с родителями ребенка всех рисков и пользы.

Ограничение синтеза субстрата

Ограничение синтеза субстрата, или субстратредуцирующая терапия (substrate reduction therapy, SRT), — один из новых подходов к терапии лизосомных болезней накопления. Цель данного лечения — снижение образования веществ, накапливающихся в организме при соответствующих лизосомных болезнях, с применением малых молекул. В отличие от ФЗТ, эффективность которой ограничена коррекцией экстраневральных проявлений заболевания, малые молекулы, способные проникать через гематоэнцефалический барьер, могут оказывать положительное влияние и на центральную нервную систему [41].

Генистеин — натуральный изофлавоноид, блокирующий сигнальный путь, опосредованный факторами роста семейства EGF (epidermal growth factor). Активация EGF-опосредованного сигнального пути приводит к экспрессии генов, кодирующих ферменты, ответственные за синтез гликозаминогликанов. Показано, что генистеин снижает уровень гликозаминогликанов в разных тканях, включая головной мозг, у мышей с МПС II и МПС IIIВ, а также корректирует воспалительные реакции в нейронах, способствуя улучшению поведенческих реакций животных [41, 42]. В исследовании с участием 7 пациентов с МПС II генистеин хорошо переносился больными и улучшал мобильность суставов в течение 26 нед лечения [43].

Необходимы дополнительные исследования, чтобы показать роль генистеина в субстратредуцирующей терапии МПС.

Генотерапия

Генная терапия является возможным методом лечения синдрома Хантера. Суть данного метода заключается в доставке нормально функционирующего гена в поврежденные клетки и ткани. Это осуществляется с помощью векторов, созданных на базе адено- или лентивирусов, и несущих необходимый генетический материал. При последующем внутривенном или внутрисуставном введении созданной конструкции происходит перенос вектора в клетки определенных тканей, и начинается синтез недостающего фермента [44]. Так как основной проблемой при лечении лизосомных болезней накопления остается невозможность проникновения ферментов через гематоэнцефалический барьер, стратегия генной терапии в настоящее время направлена на введение генных конструкций непосредственно в цереброспинальную жидкость. На мышинных моделях было показано значительное увеличение активности фермента в центральной нервной системе при таком способе введения вектора. Наилучшие результаты продемонстрированы при начале лечения в неонатальном периоде [45, 46]. В другом исследовании после введения в цереброспинальную жидкость больным мышам генной конструкции, созданной на базе такого вектора, как аденовирус AAV-9, были выявлены дозозависимая коррекция повреждений головного мозга и снижение содержания гликозаминогликанов во внутренних органах [47]. Мышей в этом исследовании лечили по достижении возраста 2–3 мес, когда клиническая картина заболевания уже была развернутой. Цель этого исследования была более поздним началом лечения заключалась в том, чтобы определить, можно ли корректировать уже манифестировавшие неврологические и соматические проявления болезни. И хотя реверсия патологии центральной нервной системы маловероятна у людей, введение генных конструкций с использованием векторов AAV непосредственно в цереброспинальную жидкость

рассматривается как потенциальный вариант для предотвращения развития патологии центральной нервной системы у пациентов с МПС II [47].

Еще одним методом лечения лизосомных болезней накопления считается генная терапия *ex vivo*, при которой проводится трансфекция гена в аутологичные стволовые клетки, которые впоследствии снова вводят пациенту. Лентивирусные векторы в генной терапии *ex vivo* использовались для экспериментального лечения нескольких генетических заболеваний и показали, что они эффективны для коррекции некоторых дефектов нейронов на моделях мыши с МПС I и IIIA [48, 49]. Генетическая терапия лентивирусными векторами *ex vivo* улучшает биохимические показатели в тканях и уменьшает нарушения центральной нервной системы у мышей с МПС II. Терапия наиболее эффективна для лечения неврологических дефектов при МПС II, хотя, безусловно, существуют определенные риски [47, 50].

Таким образом, генная терапия является перспективным методом лечения, имеющим потенциал в терапии неврологических дефектов при МПС II. Для выяснения безопасности и последствий этого подхода к лечению МПС II и других лизосомных болезней накопления необходимы дополнительные доклинические испытания и клинические исследования.

Альтернативным вариантом лечения лизосомных болезней накопления, в том числе и МПС II, является метод генной инженерии, в основе которого лежит возможность редактирования геномов. Генно-инженерный подход позволяет создавать конструкции, обладающие способностью избирательно связываться с мутантными последовательностями в генах и исправлять их. Существует несколько платформ, созданных для редактирования генов, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки:

- 1) конструкции на основе химерных нуклеаз zinc-finger (нуклеазы «цинковые пальцы»);
- 2) конструкции на основе химерных нуклеаз TALENs (transcription activator-like effector nucleases);
- 3) система CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) / Cas9 [51].

Метод CRISPR/Cas9 оказался самым простым и крайне перспективным для возможной терапии генетических заболеваний. В отличие от конструкции на основе химерных нуклеаз, где определенные нуклеотидные последовательности узнаются белками, в системе CRISPR/Cas9 последовательность ДНК распознают короткие последовательности РНК. Система построена на базе оригинальной защитной системы, существующей в природе у бактерий *Streptococcus pyogenes*. Защитная система у этой бактерии функционирует в результате экспрессии трех генов, которые кодируют две РНК (crRNA и tracrRNA) и белок каспазу Cas9.

Вариантом терапии для лизосомных болезней накопления является система CRISPR/Cas9-RGN: дифференцированные собственные клетки пациента культивируются и репрограммируются в плюрипотентные стволовые клетки, в которых дефект ДНК исправляют с помощью системы CRISPR/Cas9 [52]. Система CRISPR/Cas9-RGN для лечения наследственных заболеваний проходит в настоящее время доклинические и ранние клинические стадии, тогда как модификация клеток человека с использованием других, ранее созданных платформ для редактирования генов — продвинутой фазы клинических исследований [53–55].

Системы CRISPR/Cas9-RGN должны быть индивидуально разработаны с учетом генетического дефекта

каждого пациента. Так, если пациент является генетическим компаундом, необходимо многократное применение системы CRISPR/Cas9 или создание более сложных систем коррекции, таких как метод транспозиции piggy-bac [56, 57]. Однако, коррекция обеих мутаций может и не потребоваться в тех случаях, когда порог активности фермента для клинического проявления заболевания, например лизосомных болезней накопления, является низким и требуется лишь небольшой процент нормальной активности фермента для коррекции патологических симптомов [57, 58].

В случаях лизосомных болезней накопления, когда есть псевдогены с высокой степенью гомологии к дефектным генам, создание эффективной системы редактирования генома может быть очень проблематичным [59, 60]. В дополнение к сложностям, связанным с большим числом различных мутаций, гетерозиготностью и наличием псевдогенов, существуют также проблемы с клетками, уже несущими «вылеченный» ген. Результаты исследования лечения болезни Тея–Сакса с помощью системы CRISPR/Cas9 показали изменчивость эффективности механизмов кросс-коррекции [61, 62]. Таким образом, для эффективной терапии *in vivo*, возможно, потребуются дополнительные модификации метода [63]. Кроме того, после лечения с помощью модифицированных CRISPR/Cas9 клеток описаны и негативные изменения в течение заболевания, вероятно, обусловленные возрастом и тяжестью заболевания до начала лечения пациента [64]. Тем не менее система CRISPR/Cas9 представляет собой эффективный и относительно недорогой метод редактирования генов, который имеет определенные перспективы в качестве нового варианта лечения генетических заболеваний. Было доказано, что *in vitro* можно исправить мутации при β -талассемии и муковисцидозе, а в настоящее время проходят клинические испытания *in vivo* у пациентов с вирусом иммунодефицита человека [56].

Многие лизосомные болезни накопления в настоящее время не имеют лечения. Коррекция мутаций в плюрипотентных стволовых клетках через редактирование гена CRISPR/Cas9 с последующей дифференцировкой этих клеток, возможно, будет единственным способом терапии для этой группы заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интерес к МПС значительно возрос с появлением ферментной заместительной терапии для лечения МПС I в 2003, МПС VI в 2005, а затем и для лечения МПС II в 2006 и МПС IVA в 2014 годах. Это повысило как мотивацию врачей в выявлении пациентов на ранней стадии болезни, так и необходимость и актуальность развития быстрых и точных лабораторных тестов для диагностики МПС. Стандартный алгоритм диагностики (от клинического подозрения к биохимическим, а затем к молекулярно-генетическим тестам) претерпевает изменения в связи с развитием методов секвенирования нового поколения, где в ряде случаев сначала выявляют мутацию, а затем проводят биохимическую диагностику с целью подтверждения патогенности найденного варианта.

В перспективе проведение массового скрининга новорожденных на МПС позволит выявлять пациентов на доклинической стадии, поэтому изучение гено-фенотипических корреляций и естественного течения заболевания крайне актуально для создания в дальнейшем алгоритмов ведения пациентов.

Несмотря на улучшение продолжительности и качества жизни больных МПС II при помощи ФЗТ, эффект

ее ограничен возможностью коррекции лишь некоторых экстраневральных симптомов, что обуславливает острую необходимость разработки и внедрения новых методов лечения данных прогрессирующих лизосомных болезней накопления. Большое число пациентов с МПС II имеет выраженный неврологический дефицит, а фермент не проникает через гематоэнцефалический барьер. На этом основании большое значение придается разработке протоколов по интратекальному введению препаратов и других подходов, позволяющих проникнуть ферменту через ГЭБ.

МПС II — редкое заболевание, поэтому необходимо создание и ведение регистров, которые позволят изучать естественное течение болезни и эффективность проводимой терапии. Ранняя диагностика и все виды лечения (ФЗТ и симптоматическая терапия) — ключевые факторы, помогающие затормозить течение заболевания, смягчить клинические симптомы, улучшить качество и увеличить продолжительность жизни.

Результаты ТГСК при МПС II неоднозначны, но обнадеживающие, поэтому необходимо получение большего

числа данных, прежде чем эта процедура будет полностью одобрена и рекомендована в качестве одного из вариантов лечения МПС II.

Заветная цель медицинской генетики — пройти путь от клинического описания фенотипа, изучения патогенеза до адекватных подходов к патогенетическому лечению (ферментной заместительной терапии, диетотерапии) и, наконец, к этиотропной терапии (генотерапии) для каждой наследственной болезни.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Н.Д. Вашакмадзе

<http://orcid.org/0000-0001-8320-2027>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Harmatz P, Muenzer J, Burton BK, et al. Update on phase 1/2 clinical trials for MPS I and MPS II using ZFN-mediated in vivo genome editing. *Mol Genet Metab.* 2018;123(2):S59–S60. doi: 10.1016/j.ymgme.2017.12.143.
- Neufeld EF, Muenzer J. *The mucopolysaccharidoses*. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8th ed. New York, USA: McGraw-Hill; 2001. pp. 3421–3452.
- Scarpa M. *Mucopolysaccharidosis type II*. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al, editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018 [cited 2018 Aug 12]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1274>.
- Nelson J, Crowhurst J, Carey B, Greed L. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Western Australia. *Am J Med Genet A.* 2003;123A(3):310–313. doi: 10.1002/ajmg.a.20314.
- Baehner F, Schmiedeskamp C, Krummenauer F, et al. Cumulative incidence rates of the mucopolysaccharidoses in Germany. *J Inher Metab Dis.* 2005;28(6):1011–1017. doi: 10.1007/s10545-005-0112-z.
- Осипова Л.А., Кузенкова Л.М., Намазова-Баранова Л.С., и др. Нейропатические мукополисахаридозы: патогенез и будущее терапевтических подходов // *Вопросы современной педиатрии*. — 2015. — Т.14. — №5 — С. 539–547. [Osipova LA, Kuzenkova LM, Namazova-Baranova LS, et al. Neuronopathic types of mucopolysaccharidoses: pathogenesis and emerging treatments. *Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics.* 2015;14(5):539–547. (In Russ).] doi: 10.15690/vsp.v14i5.1436.
- Muenzer J, Beck M, Giugliani R, et al. Idursulfase treatment of Hunter syndrome in children younger than 6 years: results from the Hunter Outcome Survey. *Genet Med.* 2011;13(2):102–109. doi: 10.1097/GIM.0b013e318206786f.
- Muenzer J, Gucsavas-Calikoglu M, McCandless SE, et al. A phase I/II clinical trial of enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome). *Mol Genet Metab.* 2007;90(3):329–337. doi: 10.1016/j.ymgme.2006.09.001.
- Muenzer J, Wraith JE, Beck M, et al. A phase II/III clinical study of enzyme replacement therapy with idursulfase in mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome). *Genet Med.* 2006;8(8):465–473. doi: 10.109701.gim.0000232477.37660.fb.
- Tylki-Szymanska A, Jurecka A, Zuber Z, et al. Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis II from 3 months of age: a 3-year follow-up. *Acta Paediatr.* 2012;101(1):e42–e47. doi: 10.1111/j.1651-2227.2011.02385.x.
- Miebach E. Management of infusion-related reactions to enzyme replacement therapy in a cohort of patients with mucopolysaccharidosis disorders. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2009;47 Suppl 1:S100–S106.
- Barbier AJ, Bielefeld B, Whiteman DA, et al. The relationship between anti-idursulfase antibody status and safety and efficacy outcomes in attenuated mucopolysaccharidosis II patients aged 5 years and older treated with intravenous idursulfase. *Mol Genet Metab.* 2013;110(3):303–310. doi: 10.1016/j.ymgme.2013.08.002.
- Muenzer J, Jones SA, Tylki-Szymanska A, et al. Ten years of the Hunter Outcome Survey (HOS): insights, achievements, and lessons learned from a global patient registry. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1):82. doi: 10.1186/s13023-017-0635-z.
- Kim C, Seo J, Chung Y, et al. Comparative study of idursulfase beta and idursulfase in vitro and in vivo. *J Hum Genet.* 2017;62(2):167–174. doi: 10.1038/jhg.2016.133.
- Chung YK, Sohn YB, Sohn JM, et al. A biochemical and physicochemical comparison of two recombinant enzymes used for enzyme replacement therapies of Hunter syndrome. *Glycoconj J.* 2014;31(4):309–315. doi: 10.1007/s10719-014-9523-0.
- Sohn YB, Cho SY, Lee J, et al. Safety and efficacy of enzyme replacement therapy with idursulfase beta in children aged younger than 6 years with Hunter syndrome. *Mol Genet Metab.* 2015;114(2):156–160. doi: 10.1016/j.ymgme.2014.08.009.
- Sohn YB, Cho SY, Park SW, et al. Phase I/II clinical trial of enzyme replacement therapy with idursulfase beta in patients with mucopolysaccharidosis II (Hunter Syndrome). *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:42. doi: 10.1186/1750-1172-8-42.
- Jurecka A, Malinova V, Tylki-Szymanska A. Effect of rapid cessation of enzyme replacement therapy: a report of 5 more cases. *Mol Genet Metab.* 2014;111(2):212–213. doi: 10.1016/j.ymgme.2013.08.019.
- Anbu AT, Mercer J, Wraith JE. Effect of discontinuing of laronidase in a patient with mucopolysaccharidosis type I. *J Inher Metab Dis.* 2006;29(1):230–231. doi: 10.1007/s10545-006-0237-8.
- Wegrzyn G, Tylki-Szymanska A, Liberek A, et al. Rapid deterioration of a patient with mucopolysaccharidosis type I during interruption of enzyme replacement therapy. *Am J Med Genet A.* 2007;143A(16):1925–1927. doi: 10.1002/ajmg.a.31831.
- Vogler C, Levy B, Grubb JH, et al. Overcoming the blood-brain barrier with high-dose enzyme replacement therapy in murine mucopolysaccharidosis VII. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(41):14777–14782. doi: 10.1073/pnas.0506892102.

22. Grubb JH, Vogler C, Sly WS. New strategies for enzyme replacement therapy for lysosomal storage diseases. *Rejuvenation Res.* 2010;13(2–3):229–236. doi: 10.1089/rej.2009.0920.
23. Muenzer J, Hendriksz CJ, Fan Z, et al. A phase I/II study of intrathecal idursulfase-IT in children with severe mucopolysaccharidosis II. *Genet Med.* 2016;18(1):73–81. doi: 10.1038/gim.2015.36.
24. Dickson PI, Hanson S, McEntee MF, et al. Early versus late treatment of spinal cord compression with long-term intrathecal enzyme replacement therapy in canine mucopolysaccharidosis type I. *Mol Genet Metab.* 2010;101(2–3):115–122. doi: 10.1016/j.ymgme.2010.06.020.
25. Giugliani R, Dalla Corte A, Poswar F, et al. Intrathecal/Intracerebroventricular enzyme replacement therapy for the mucopolysaccharidoses: efficacy, safety, and prospects. *Expert Opin Orphan Drugs.* 2018;6(7):403–411. doi: 10.1080/21678707.2018.1487838.
26. Boado RJ, Ka-Wai Hui E, Zhiqiang Lu J, Pardridge WM. Insulin receptor antibody-iduronate 2-sulfatase fusion protein: pharmacokinetics, anti-drug antibody, and safety pharmacology in Rhesus monkeys. *Biotechnol Bioeng.* 2014;111(11):2317–2325. doi: 10.1002/bit.25289.
27. Karkan D, Pfeifer C, Vitalis TZ, et al. A unique carrier for delivery of therapeutic compounds beyond the blood-brain barrier. *PLoS One.* 2008;3(6):e2469. doi: 10.1371/journal.pone.0002469.
28. Motas S, Haurigot V, Garcia M, et al. CNS-directed gene therapy for the treatment of neurologic and somatic mucopolysaccharidosis type II (Hunter Syndrome). *JCI Insight.* 2016;1(9):e86696. doi: 10.1172/jci.insight.86696.
29. Wraith JE, Scarpa M, Beck M, et al. Mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): a clinical review and recommendations for treatment in the era of enzyme replacement therapy. *Eur J Pediatr.* 2008;167(3):267–277. doi: 10.1007/s00431-007-0635-4.
30. Scarpa M, Almassy Z, Beck M, et al. Mucopolysaccharidosis type II: European recommendations for the diagnosis and multidisciplinary management of a rare disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:72–77. doi: 10.1186/1750-1172-6-72.
31. Bradley LA, Haddow HR, Palomaki GE. Treatment of mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): results from a systematic evidence review. *Genet Med.* 2017;19(11):1187–1201. doi: 10.1038/gim.2017.30.
32. Okumiya T, Kroos MA, Vliet LV, et al. Chemical chaperones improve transport and enhance stability of mutant alpha-glucosidases in glycogen storage disease type II. *Mol Genet Metab.* 2007;90(1):49–57. doi: 10.1016/j.ymgme.2006.09.010.
33. Hoshina H, Shimada Y, Higuchi T, et al. Chaperone effect of sulfated disaccharide from heparin on mutant iduronate-2-sulfatase in mucopolysaccharidosis type II. *Mol Genet Metab.* 2018;123(2):118–122. doi: 10.1016/j.ymgme.2017.12.428.
34. Gosh A, Miller W, Orchard PJ, et al. Enzyme replacement therapy prior to hematopoietic stem cell transplantation in mucopolysaccharidosis type I: 10 year combined experience of 2 centers. *Mol Genet Metab.* 2016;117(3):373–377. doi: 10.1016/j.ymgme.2016.01.011.
35. Vellodi A, Young E, Cooper A, et al. Long-term follow-up following bone marrow transplantation for Hunter disease. *J Inher Metab Dis.* 1999;22(5):638–648.
36. Barth AL, de Magalhães TS, Reis AB, et al. Early hematopoietic stem cell transplantation in a patient with severe mucopolysaccharidosis II: A 7 years follow-up. *Mol Genet Metab Rep.* 2017;12:62–68. doi: 10.1016/j.ymgmr.2017.05.010.
37. Guffon N, Bertrand Y, Forest I, et al. Bone marrow transplantation in children with Hunter syndrome: outcome after 7 to 17 years. *J Pediatr.* 2009;154(5):733–737. doi: 10.1016/j.jpeds.2008.11.041.
38. Wang J, Luan Z, Jiang H, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in 34 pediatric cases of mucopolysaccharidosis — a 10-year report from China children transplant group. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22(11):2104–2108. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.08.015.
39. Kubaski F, Yabe H, Suzuki Y, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with mucopolysaccharidosis II. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23(10):1795–1803. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.06.020.
40. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, et al. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: a nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab.* 2012;107(3):513–520. doi: 10.1016/j.ymgme.2012.09.004.
41. Friso A, Tomanin R, Salvalaio M, Scarpa M. Genistein reduces glycosaminoglycan levels in a mouse model of mucopolysaccharidosis type II. *Br J Pharmacol.* 2010;159(5):1082–1091. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00565.x.
42. de Ruijter J, Valstar MJ, Narajczyk M, et al. Genistein in Sanfilippo disease: a randomized controlled crossover trial. *Ann Neurol.* 2012;71(1):110–120. doi: 10.1002/ana.22643.
43. Marucha J, Tyłki-Szymańska A, Jakóbkiewicz-Banecka J, et al. Improvement in the range of joint motion in seven patients with mucopolysaccharidosis type II during experimental gene expression-targeted isoflavone therapy (GET IT). *Am J Med Genet A.* 2011;155A(9):2257–2262. doi: 10.1002/ajmg.a.34146.
44. Di Francesco C, Cracco C, Tomanin R, et al. In vitro correction of iduronate-2-sulfatase deficiency by adenovirus-mediated gene transfer. *Gene Ther.* 1997;4(5):442–448. doi: 10.1038/sj.gt.3300411.
45. Hong Y, Yu SS, Kim JM, et al. Construction of a high efficiency retroviral vector for gene therapy of Hunter's Syndrome. *J Gene Med.* 2003;5(1):18–29. doi: 10.1002/jgm.316.
46. Jung SC, Park ES, Choi EN, et al. Characterization of a novel mucopolysaccharidosis type II mouse model and recombinant AAV2/8 vector-mediated gene therapy. *Mol Cells.* 2010;30(1):13–18. doi: 10.1007/s10059-010-0083-2.
47. Hinderer C, Katz N, Louboutin JP, et al. Delivery of an adeno-associated virus vector into cerebrospinal fluid attenuates central nervous system disease in mucopolysaccharidosis type II mice. *Hum Gene Ther.* 2016;27(11):906–915. doi: 10.1089/hum.2016.101.
48. Yadak R, Torres-Torronteras J, Bogaerts E, et al. OP45–3024: Efficient lentiviral vector-mediated hematopoietic stem cell gene therapy in MNGIE mice. *Eur J Paediatr Neurol.* 2015;19 Suppl 1:S15. doi: 10.1016/s1090-3798(15)30046-5.
49. McIntyre C, Roberts ALD, Ranieri E, et al. Lentiviral-mediated gene therapy for murine mucopolysaccharidosis type IIIA. *Mol Genet Metab.* 2008;93(4):411–418. doi: 10.1016/j.ymgme.2007.11.008.
50. Christianson HC, Svensson KJ, van Kuppevelt TH, et al. Cancer cell exosomes depend on cell-surface heparan sulfate proteoglycans for their internalization and functional activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(43):17380–17385. doi: 10.1073/pnas.1304266110.
51. Gaj T, Gersbach CA, Barbas CF 3rd. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol.* 2013;31(7):397–405. doi: 10.1016/j.tibtech.2013.04.004.
52. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006;126(4):663–676. doi: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
53. Perez EE, Wang J, Miller JC, et al. Establishment of HIV-1 resistance in CD4+ T cells by genome editing using zinc-finger nucleases. *Nat Biotechnol.* 2008;26(7):808–816. doi: 10.1038/nbt1410.
54. Tebas P, Stein D, Tang WW, et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. *N Engl J Med.* 2014;370(10):901–910. doi: 10.1056/NEJMoa1300662.
55. Im W, Moon J, Kim M. Applications of CRISPR/Cas9 for gene editing in hereditary movement disorders. *J Mov Disord.* 2016;9(3):136–143. doi: 10.14802/jmd.16029.
56. Xie F, Ye L, Chang JC, et al. Seamless gene correction of beta-thalassemia mutations in patient specific iPSCs using CRISPR/Cas9 and piggybac. *Genome Res.* 2014;24(9):1526–1533. doi: 10.1101/gr.173427.114.

57. Bolukbasi MF, Gupta A, Wolfe SA. Creating and evaluating accurate CRISPR-Cas9 scalpels for genomic surgery. *Nat Methods*. 2016;13(1):41–50. doi: 10.1038/nmeth.3684.
58. Ashton LJ, Brooks DA, McCourt PA, et al. Immunoquantification and enzyme kinetics of alpha-L-iduronidase in cultured fibroblasts from normal control and mucopolysaccharidosis type I patients. *Am J Hum Genet*. 1992;50(4):787–794.
59. Long GL, Winfield S, Adolph KW, et al. Structure and organization of the human metaxin gene (MTX) and pseudogene. *Genomics*. 1996;33:177–184. doi: 10.1006/geno.1996.0181.
60. Armstrong LC, Komiya T, Bergman BE, et al. Metaxin is a component of a preprotein import complex in the outer membrane of the mammalian mitochondrion. *J Biol Chem*. 1997;272(10):6510–6518. doi: 10.1074/jbc.272.10.6510.
61. Lacorazza HD, Flax JD, Snyder EY, Jendoubi M. Expression of human beta-hexosaminidase alpha-subunit gene (the gene defect of Tay-Sachs disease) in mouse brains upon engraftment of transduced progenitor cells. *Nat Med*. 1996;2(4):424–429. doi: 10.1038/nm0496-424.
62. Martino S, Emiliani C, Tancini B, et al. Absence of metabolic cross-correction in Tay-Sachs cells: implications for gene therapy. *J Biol Chem*. 2002;277(23):20177–20184. doi: 10.1074/jbc.M106164200.
63. Matsuoka K, Tamura T, Tsuji D, et al. Therapeutic potential of intracerebroventricular replacement of modified human β -hexosaminidase b for GM2 gangliosidosis. *Mol Ther*. 2011;19(6):1017–1024. doi: 10.1038/mt.2011.27.
64. Cachón-González MB, Wang SZ, Ziegler R, et al. Reversibility of neuropathology in Tay-Sachs-related diseases. *Hum Mol Genet*. 2014;23(3):730–748. doi: 10.1093/hmg/ddt459.