

Diplomarbeit

**Gentherapeutische Ansätze bei der Behandlung der
Leber'schen kongenitalen Amaurose**

eingereicht von

Lenka Obrtancova

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Drⁱⁿ. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Diagnostik- & Forschungsinstitut für Humangenetik

unter der Anleitung von

Assoz. Prof. Priv.-Doz. Mag. Dr. rer.nat. Christian Windpassinger

Graz, 12.05.2025

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass, sofern bei der Erstellung dieser Arbeit Künstliche Intelligenz (KI) Werkzeuge zur Generierung und/oder Korrektur bestimmter Textpassagen verwendet wurden, dieser Einsatz unter Einhaltung ethischer Grundsätze, akademischer Integrität und den Vorgaben meiner Universität erfolgte, sowie in Folge dies transparent gemacht und in angemessener Weise gekennzeichnet wurde.

Graz, am 12.05.2025

Lenka Obrtancova eh.

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen herzlich bedanken, die mich beim Abschluss dieser Arbeit und dem Abschluss meines Studiums unterstützt haben.

Zuallererst möchte ich meinem Betreuer Prof. Dr. Christian Windpassinger für seinen Rat, seine kontinuierliche Unterstützung und seine Geduld während meiner Diplomarbeit danken.

Anschließend möchte ich mich bei meinen Eltern, Ján Obrtanec und Jana Obrtancová bedanken, die mich mit Liebe, Verständnis, Fürsorge und bedingungsloser Unterstützung auf meinem Lebensweg begleiten.

Darüber hinaus danke ich meiner Schwester Jana für ihr stets offenes Ohr, für ihre unermüdliche Ermutigung und für ihre Bereitschaft, in jeder Situation zu helfen.

Weiters möchte ich mich herzlichst bei Dr. Thomas Wegscheider bedanken, dessen immenses Wissen und unschätzbare Erfahrung mich während meiner Ausbildung zur Ärztin ermutigt und fachlich wachsen haben lassen.

Des Weiteren gehört ein großer Dank meiner Deutschlehrerin, Ing. Tatiana Kamžíková, die in mir die Liebe zur deutschen Sprache geweckt hat und einen Grundbaustein für mein Studium in einem deutschsprachigen Land gelegt hat.

Daneben danke ich meinem sehr guten Bekannten Harald Bastirsch für seine Freundlichkeit, sein Lebensenthusiasmus und dafür, dass er mir geholfen hat, Herausforderungen zu meistern und als Person zu wachsen.

Mein größter Dank gilt meinem liebsten Elias, für all die wundervollen Jahre, die wir zusammen verbringen durften, für seine unerschöpfliche Unterstützung, für seine bedingungslose Zuneigung und Wertschätzung, seine Positivität und für den starken emotionalen Rückhalt über die Dauer meines Studiums.

Danke!

Zusammenfassung

Einleitung

Die Leber'sche kongenitale Amaurose ist eine schwerwiegende retinale Erkrankung aus der Gruppe der erblichen Netzhautdystrophien. Sie führt zu einer Degeneration der lichtempfindlichen Stäbchen und Zapfen der Netzhaut. Dies resultiert in weiterer Folge in einer progressiven Sehbeeinträchtigung und schließlich in einer Erblindung. Bis vor kurzem erfolgte die Behandlung der LCA ausschließlich unterstützend. Allerdings wurden durch die Fortschritte in der Molekularbiologie und Gentechnik potenziell kurative Therapieansätze für die LCA entwickelt, die die Progression der Erkrankung aufhalten können und im Idealfall zu einer Wiederherstellung des Sehvermögens führen können.

Material & Methoden

Der Schwerpunkt dieser Literaturarbeit liegt auf der Zusammenfassung der verfügbaren gentherapeutischen Behandlungsansätze bei der LCA sowie jener Therapieansätze, die sich in der präklinischen Entwicklung oder der Phase der klinischen Erprobung befinden. Die relevanten Daten wurden durch eine gründliche Literaturrecherche gesammelt. Die für diese Arbeit relevanten wissenschaftlichen Publikationen stammen aus den Datenbanken MEDLINE und Cochrane Library.

Ergebnisse & Diskussion

Im Mittelpunkt der Gentherapieentwicklung standen in den letzten Jahren die AAV-vektorenvermittelten Gensatztherapien, die Geneditierungstherapien mit der CRISPR/Cas9-Technologie, die Antisense-Oligonukleotiden-vermittelten Therapien sowie die optogenetischen Therapien. Ein wichtiger Meilenstein auf dem Feld der Gentherapie war die FDA- und EMA-Zulassung der vektorenvermittelten Gensatztherapie mit Voretigen neparvovec (Luxturna®) für die *RPE65*-assoziierte LCA. Voretigen neparvovec führte bei der Mehrheit der behandelten Patienten und Patientinnen zu einer signifikanten Verbesserung des Sehens und der retinalen Lichtempfindlichkeit. Sehr gute Therapieerfolge konnten dabei vornehmlich bei jungen Patienten beobachtet werden. Seit der Luxturna®-Zulassung wurden jedoch auch potenziell schwerwiegende Nebenwirkungen wie die chorioretinale Atrophie und intraokuläre Inflammationen beobachtet. Neben Voretigen neparvovec konnten vielversprechende Ergebnisse auch für weitere Gensatztherapeutika, welche sich aktuell in Phase der klinischen Zulassung befinden, verzeichnet werden. Hierzu gehören u.a. die Gensatztherapien mit ATSN-101 für *GUCY2D*-assoziierte LCA und rAAV8.hRKP.AIPL1 für die *AIPL1*-assoziierten LCA.

Neben den vektorenvermittelten gentherapeutischen Ansätzen stehen auch die kosteneffizienteren CRISPR/Cas9-gentherapeutischen Behandlungstechnologien im Mittelpunkt der Forschung. Die Ergebnisse derzeit laufender klinischer Zulassungsstudien für den Editierungskomplex Edit-101 bei Patienten mit einer *CEP290*-Mutation konnten mit einem guten Wirksamkeits- und Sicherheitsprofil überzeugen. Die Gensatztechnologien lösen jedoch allgemeine Sicherheitsbedenken im Zusammenhang mit Off-Target-Effekten und unbeabsichtigten genetischen Veränderungen aus.

Während die Gensatztherapie und Geneditierungstherapie genspezifisch sind, könnte die optogenetische Therapie zukünftig den Behandlungshorizont der LCA-Betroffenen stark erweitern. Diese ist nämlich genunspezifisch und auch bei Patienten ohne retinale Restfunktion anwendbar.

Die Entwicklung okulärer Gentherapien hat in den vergangenen Jahren große Fortschritte erreicht. Dennoch zeigen sich zahlreiche Herausforderungen, weshalb es weiterer Forschung bedarf, um die Gentherapeutika in Hinsicht auf die Therapienebenwirkungen, maximale Wirksamkeit und breite Verfügbarkeit zu optimieren und ihr volles Potenzial auszuschöpfen.

Abstract

Introduction

Leber congenital amaurosis (LCA) is a severe retinal disease within the group of hereditary retinal dystrophies. It leads to the degeneration of the light-sensitive rods and cones in the retina, resulting in progressive visual impairment and ultimately blindness. Until recently, the treatment of LCA was solely supportive. However, with advancements in molecular biology and genetic engineering, potentially curative therapeutic approaches have been developed, which can halt the progression of the disease and, ideally, restore vision.

Materials & Methods

The focus of this literature review is to summarize the available gene therapeutic approaches for LCA, as well as those therapies that are currently in preclinical development or the clinical trial phase. Relevant data was collected through an extensive literature search. The scientific publications relevant to this work were obtained from the MEDLINE and Cochrane Library databases.

Results & Discussion

In recent years, the development of gene therapy has been centered around AAV vector-mediated gene replacement therapies, CRISPR/Cas9-based gene editing therapies, antisense oligonucleotide-mediated therapies, and optogenetic therapies. A significant milestone in the field of gene therapy was the FDA and EMA approval of the vector-mediated gene replacement therapy with voretigene neparvovec (Luxturna®) for *RPE65*-associated LCA. Voretigene neparvovec resulted in a significant improvement in vision and retinal light sensitivity for most treated patients. Notably, excellent therapeutic outcomes were observed primarily in younger patients. However, since the approval of Luxturna®, potentially serious side effects, such as chorioretinal atrophy and intraocular inflammation, have been reported. In addition to voretigene neparvovec, promising results have been observed for other gene replacement therapeutics that are currently in the clinical approval phase. These include gene replacement therapies with ATSN-101 for *GUCY2D*-associated LCA and rAAV8.hRKp.AIPL1 for *AIPL1*-associated LCA.

Alongside the vector-mediated gene therapeutic approaches, more cost-effective CRISPR/Cas9-based gene therapy technologies are also a focal point of research. The results of ongoing clinical trials with the editing complex Edit-101 for patients with a *CEP290* mutation have demonstrated a favorable efficacy and safety profile. However,

gene replacement technologies raise general safety concerns related to off-target effects and unintended genetic alterations.

While gene replacement and gene editing therapies are gene-specific, optogenetic therapy may significantly expand the treatment options for LCA patients in the future. This approach is gene-unspecific and can also be applied to patients without residual retinal function.

The development of ocular gene therapies has achieved significant milestones in recent years. However, numerous challenges remain, and further research is needed to optimize gene therapeutics in terms of therapy-related side effects, maximal efficacy and broad availability to fully develop their potential.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	III
Zusammenfassung.....	IV
Abstract.....	VI
Inhaltsverzeichnis.....	VIII
Abkürzungen und deren Erklärung	X
Abbildungsverzeichnis.....	XI
Tabellenverzeichnis.....	XII
1 Einleitung	1
1.1 Erbliche Netzhautdystrophien (Inherited retinal dystrophies, IRDs)	1
1.1.1 Definition und Prävalenz der IRDs	1
1.1.2 Erstmanifestation und Symptome der IRDs	2
1.1.3 Krankheitsverlauf bei IRDs	2
1.1.4 Einteilung der IRDs.....	2
1.1.5 Diagnostik.....	3
1.1.6 Folgen der Sehbehinderung und Erblindung bei den IRDs	4
1.1.7 Behandlung und Therapiemöglichkeiten der IRDs.....	5
1.2 Leber'sche kongenitale Amaurose	5
1.2.1 Prävalenz und klinische Symptome	5
1.2.2 Publizierter Fallbericht.....	7
1.2.3 Genetische Ursachen	7
1.2.4 Genetische Diagnostik	10
1.2.5 Molekularbiologischer Hintergrund der LCA-Erkrankung	11
1.2.6 Genotyp-Phänotyp-Korrelation	13
1.2.7 Ophthalmologische Befunde bei Affektion jeweiliger Gene	15
1.2.8 Allgemeines Therapiemanagement bei der LCA	17
1.2.9 Gentherapeutische Möglichkeiten / Klinische Studien zur Gentherapie	18
1.2.10 Optogenetische Therapieansätze	19
2 Material und Methoden	20
2.1 Forschungsfrage.....	20
2.2 Methodenwahl	20
2.3 Datenerhebung	20
3 Ergebnisse	22

3.1	Molekulargenetischer Mechanismus der AAV-vektorbasierten Gentherapie	22
3.1.1	AAV-Genomstruktur	22
3.1.2	Serotypen-Auswahl	23
3.1.3	Verabreichungsweg	24
3.1.4	Zellinfektion durch das AAV	25
3.1.5	AAV-vermittelte Gentherapeutika	27
3.2	Therapie der RPE65-assoziierten LCA mit Voretigen Neparvovec (Luxturna®) 27	
3.2.1	Struktureigenschaften	27
3.2.2	Wirkungsmechanismus, Indikationen und Kontraindikationen	29
3.2.3	Klinische Zulassungsstudien (Phase I-IV)	30
3.2.4	Wirkungsprofil	32
3.2.5	Unerwünschte Nebenwirkungen	35
3.3	AAV2/5-OPTIRPE65 zur Gentherapie einer RPE65-assoziierten LCA	39
3.4	ATSN-101 zur Gentherapie einer GUCY2D-assoziierten LCA	39
3.5	Forschung zur Gentherapieentwicklung für die CRB1-assoziierte LCA	40
3.6	rAAV8.hRKp.AIPL1 zur Gentherapie einer AIPL1-assoziierten LCA	40
3.7	CRISPR/Cas9-Geneditierung bei der LCA	42
3.7.1	Struktur und Wirkungsmechanismus	42
3.7.2	LCA-Therapie mit Geneditierungskomplex Edit-101	46
3.8	RNA-basierte AON-Therapie mit QR-110 (Sepofarsen)	47
3.9	Optogenetische Therapieansätze bei der LCA	49
4	Diskussion	51
4.1	Das Risiko-Nutzen-Profil der Gentherapie bei der LCA	51
4.2	Herausforderungen der Gentherapie bei der LCA	54
4.3	Zukunftsansichten	55
4.4	Limitationen und Grenzen der Arbeit	55
	Literaturverzeichnis	57

Abkürzungen und deren Erklärung

AAP	assemblierungsaktivierendes Protein)
AAV	Adeno-assoziiertes Virus
AON	Antisense-Oligonukleotiden
BCVA	best corrected visual acuity; bestkorrigierte Sehschärfe
Cas9	CRISPR-assoziiertes Protein 9
CRISPR	clustered regularly interspaced short palindromic repeats
EMA	European Medicine Agency
EOSRD	Early-onset severe retinal dystrophy; frühbeginnende schwere Netzhautdystrophie
ERG	Elektroretinogramm
FAF	Fundusautofluoreszenz
FDA	Food and Drug Administration
ffERG	Ganzfeldelektroretinographie
FST	Full-field Stimulus test, Ganzfeldstimulustest
HDR	Homology directed repair, Homologie-gerichtete Reparatur
IRDs	inherited retinal dystrophies, erbliche Netzhautdystrophien
ITRs	invertierte terminale Wiederholungen
LCA	Leber'sche kongenitale Amaurose
NCT	Nationale klinische Studie
NHEJ	non-homologous end-joining, nicht-homologe Endverknüpfung
OCT	Optische Kohärenztomographie
PAMs	Protospacer Adjacent Motifs, Protospacer-angrenzende Motive
rAAV	rekombinanter adeno-assoziiertes Virus
RPE	Retinales Pigmentepithel
VEPs	Visuell evozierte Potenziale
VP	Virales Protein

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Retinal-Retinol-Zyklus (Visueller Zyklus).....	12
Abbildung 2: FAF-Bildgebung und OCT-Messung bei Patienten mit <i>RPE65</i> -, <i>GUCY2D</i> - und <i>CEP290</i> -Mutation	15
Abbildung 3: Adeno-assoziierte Viren: Genomaufbau.....	23
Abbildung 4: Transduktionsmechanismus bei AAV-Vektoren	26
Abbildung 5: Voretigen neparvovec: Vektordesign	28
Abbildung 6: Graphische Darstellung der operativen subretinalen Applikation von Voretigen neparvovec. Einfluss des exprimierten RPE65 auf den visuellen Zyklus im retinalen Pigmentepithel.	30
Abbildung 7: Atrophie-Ausprägungen nach Therapie mit Voretigen neparvovec	36
Abbildung 8: OCT-Ergebnisse der behandelten <i>AIP1L1</i> -LCA-Patienten.....	41
Abbildung 9: Struktur der sgRNA	43
Abbildung 10: Technologiemechanismus der CRISPR/Cas9-Geneditierung.....	45
Abbildung 11: QR110-Wirkungsmechanismus	48

Die Abbildungen 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 und 11 stammen aus Open-Access-Artikeln. Für die Abbildungen 2 und 7 liegt eine Nutzungsgenehmigung der jeweiligen Verlage vor.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: LCA/EOSRD: assoziierte Gene	8
Tabelle 2: LCA: Affektierte Gene und Funktionen ihres Genproduktes	10
Tabelle 3: Zugelassene AAV-Gentherapeutika.....	27
Tabelle 4: Anatomische und funktionelle Untersuchungsergebnisse pädiatrischer Patienten nach der Voretigen neparvovec-Therapie.....	33

1 Einleitung

Bei der Leber'schen kongenitalen Amaurose (Leber Congenital Amaurosis, LCA) handelt es sich um eine hereditäre Erkrankung der Retina, die zur Gruppe der erblichen Netzhautdystrophien (inherited retinal dystrophies, IRDs) gehört. Die LCA wird als eine der schwerwiegendsten Formen der IRDs betrachtet und ist durch eine hochgradige Sehbeeinträchtigung charakterisiert, welche seit dem Zeitpunkt der Geburt besteht bzw. sich in den ersten Lebensmonaten des Säuglings entwickelt. Der schweren Sehstörung bei der LCA liegt bei den meisten LCA-Betroffenen eine progressive Dystrophie der Netzhaut zugrunde. [1,2]

Die Symptome der LCA wurden erstmalig im Jahr 1869 vom Dr. Theodore Leber als eine schwere Sehbeeinträchtigung, begleitet von Nystagmen und schwachen Pupillenreflexen bei Säuglingen, beschrieben. Heutzutage verfügt man über ein tiefgehendes Wissen über diese Erkrankung. [1]

Die LCA betrifft 1 von 33000-81000 Lebendgeburten. Obwohl sie lediglich 5% aller IRDs-Fälle ausmacht, ist sie für 20% der Erblindungen im Kindesalter verantwortlich. [1,3]

In den vergangenen Jahren konnten durch intensive medizinische Forschung neue genetherapeutische Behandlungsansätze für die Leber'sche kongenitale Amaurose entwickelt werden. Zu diesen Therapieansätzen gehören die Gensatztherapie durch die Verwendung von adeno-assoziierten Viren, die Optogenetik sowie die Genom-Editierung über das CRISPR/Cas9-System. Durch diese Therapien könnte in der Zukunft ein bedeutsamer Therapieerfolg bei der LCA-Behandlung erreicht werden. [7]

1.1 *Erbliche Netzhautdystrophien (Inherited retinal dystrophies, IRDs)*

1.1.1 Definition und Prävalenz der IRDs

Bei den IRDs, auch als genetisch determinierte Netzhautdystrophien bzw. erbliche Netzhautdystrophien bekannt, handelt es sich um eine klinisch und genetisch heterogene Gruppe von Augenerkrankungen, welche typischerweise mit einer gravierenden Sehbeeinträchtigung in Zusammenhang stehen. Ursächlich hierfür sind genetische Mutationen, die zur Beeinträchtigung der normalen Funktion von Fotorezeptoren der Retina sowie zum Untergang der Netzhautzellen führen können. Heutzutage sind mehr als 280 Genvarianten bekannt, welche mit IRDs assoziiert sind. [1,4,5]

Die Prävalenz der IRDs beträgt 0,06-0,2%. Global sind 5-10 Millionen Personen von diesem Erkrankungsspektrum betroffen. [6].

1.1.2 Erstmanifestation und Symptome der IRDs

Der Erstmanifestationszeitpunkt kann bei den IRDs-Erkrankungen stark variieren. Während die ersten Symptome bereits bei der Geburt ausgeprägt sein können, können diese auch erstmalig im späten Erwachsenenalter auftreten. Auch bei der symptomatischen Ausprägung der verschiedenen IRDs liegt eine starke Variation vor. So sieht man beispielsweise eine weite Bandbreite bei der Ausprägung der Dystrophie-Symptomatik, die von einer Lichtempfindlichkeit über eine Nachtblindheit bis hin zu einer schwerwiegenden Reduktion des Sehvermögens und kompletter Blindheit reichen kann. Den verschiedenen klinischen Ausprägungsformen der IRDs liegt eine gemeinsame Ursache zugrunde, die Degeneration bzw. Dysfunktion von Fotorezeptoren der Netzhaut. [4,6]

1.1.3 Krankheitsverlauf bei IRDs

Die Krankheiten der Gruppe der IRDs können sowohl einen progressiven Verlauf zeigen als auch eine konstante, sich nicht verändernde Dynamik aufweisen. Zu den stationären Erkrankungen gehören Zapfen-Stäbchen-Dysfunktionssyndrome. Diese kommen kongenital vor bzw. zeigen eine frühe Manifestation im Sinne einer Early-Infantile-Onset-Erkrankung. Häufiger ist bei den IRDs jedoch ein progressiver irreversibler Krankheitsverlauf zu beobachten. Zu den Erkrankungen mit Progressionstendenz gehören mitunter die Zapfendystrophie (COD, Cone Dystrophy), die Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (CORD: Cone-rod Dystrophy) und die Stäbchen-Zapfen-Dystrophie (RDC, Rod-cone Dystrophy). Bei Erkrankungen mit progressiven Verläufen zeigt sich häufig ein späterer Ausbruch der Erkrankung in Bezug auf das Lebensalter der Betroffenen. Eine Krankheitsprogredienz zeigen u.a. die Leber'sche kongenitale Amaurose und EOSRD (Early-onset severe retinal dystrophy). Diese sind durch einen kongenitalen bzw. frühmanifesten schwerwiegenden Sehverlust charakterisiert. [4,7]

1.1.4 Einteilung der IRDs

Die Gruppe der IRDs kann in 4 Subtypen klassifiziert werden:

1. Stäbchen-Zapfen-Degenerationen
2. Zapfen-Stäbchen-Degenerationen
3. Chorioretinale Degenerationen

4. Makula-Degenerationen

Die Stäbchen-Zapfen-Degenerationen sind die am häufigsten vorkommenden Erkrankungen unter den IRDs. Aufgrund der primären Affektion der lichtsensitiven Stäbchen leiden die Patienten initial unter einem peripheren Sehverlust und einer Nachtblindheit. Im weiteren Krankheitsverlauf kommt es zur Affektion der Zapfen, die zum zentralen Sehverlust, sowie zum Verlust des Farbsehens führt. [6]

Bei Zapfen-Stäbchen-Degenerationen degenerieren primär die Zapfen, die Betroffenen präsentieren sich in der Regel anfangs mit einer Farbsehstörung, einer Photophobie sowie einer reduzierten Sehschärfe. [6]

Chorioretinale Degenerationen können in ihrer Symptomatik sehr variabel ausgeprägt sein, typischerweise zeigt sich hier jedoch wiederum eine Nachtblindheit, sowie ein initialer peripherer Sehverlust mit einer Progression zum zentralen Sehverlust im weiteren Krankheitsverlauf. [6]

Patienten mit einer Makuladegeneration leiden unter einem verzerrten Sehen, einer reduzierten Sehschärfe sowie unter zentralen und parazentralen Gesichtsfeldausfällen, das periphere Sehen ist typischerweise nicht beeinträchtigt. [6]

1.1.5 Diagnostik

Beim Vorliegen der für eine IRD sprechenden Symptomatik erfolgt die Diagnosestellung im Rahmen einer umfangreichen fachärztlichen ophthalmologischen Untersuchung sowie im Rahmen einer humangenetischen Beratung und Diagnostik, da für die IRDs zahlreiche Genmutationen ursächlich sind. Trotz der Komplexität der Netzhautdystrophien konnten in den letzten Jahren erhebliche Fortschritte bei der Identifizierung zuständiger Genvarianten erzielt werden. Dies basiert auf der diagnostischen Anwendung von fortgeschrittenen Sequenzierungstechnologien wie Next Generation Sequencing (NGS). Durch die Anwendung dieser Hochdurchsatztechnologien ist es möglich, viele in Frage kommende Gene in einem einzigen Durchgang zu lesen, statt aufwendige sequenzielle Gen-für-Gen-Tests durchführen zu müssen. Zudem ist durch molekularbiologische Verfahren wie Whole-Exome-Sequencing die Identifizierung möglicher neuer für IRDs verantwortlicher Genvarianten möglich. Basierend auf den Kenntnissen über die genetischen Ursachen der IRDs konnte zudem ein gutes Verständnis über die Genotyp-Phänotyp-Korrelation entwickelt werden, sowie eine intensive Forschung an gentherapeutischen Behandlungsmethoden in Gang gesetzt werden. [5,8]

1.1.6 Folgen der Sehbehinderung und Erblindung bei den IRDs

Die aktuellen epidemiologischen Analysen zeigen, dass die bisherigen Hauptursachen von Blindheit wie Katarakte, altersbedingte Makuladegenerationen, unterkorrigierte Refraktionsanomalien, Glaukome, sowie die diabetische Retinopathie vornehmlich ältere Patientengruppen betreffen und in ihrer Prävalenz dank verbesserter und zugänglicher Augenscreening-Möglichkeiten eine Tendenz zum Rückgang zeigen. Die Erblindung bzw. schwere Sehbehinderung bei jüngeren Patienten im arbeitsfähigen Alter, welche in der Vergangenheit hauptsächlich durch die diabetische Retinopathie verursacht wurde, wird in Industrieländern heutzutage überwiegend durch die IRDs hervorgerufen. Demzufolge haben Erkrankungen dieser Gruppe einen sehr hohen Stellenwert in der heutigen medizinischen Forschung. [6,9]

Sehbeeinträchtigung und Blindheit beeinflussen in der Regel die Lebensqualität der betroffenen Personen sehr stark. Die Sehfähigkeit hat einen immens hohen Einfluss auf sämtliche Lebensbereiche wie Bildung, Arbeitsfähigkeit, Gesundheit, Freizeit- und Erholungsmöglichkeiten sowie Lebenserwartung. In einer retrospektiven australischen Studie konnte nachgewiesen werden, dass blinde Personen im arbeitsfähigen Alter im Vergleich zur Kontrollgruppe mit einer unbeeinträchtigten Sehfähigkeit eine signifikant erhöhte Morbidität und Mortalität haben und häufigere und längere Krankenhausaufenthalte benötigen. Verglichen mit der Normalpopulation, welche durch die Kontrollgruppe repräsentiert wurde, war die Mortalität der Fallgruppe siebenfach erhöht, die Krankenhausaufenthalte waren im Durchschnitt 1,5-mal häufiger und dauerten 2,2-mal länger als bei der Kontrollgruppe. Laut einer Publikation von Eileen et al. ist zudem eine Blindheit bzw. stark verminderte Sehkraft signifikant mit der Entwicklung einer Depression und Angststörung assoziiert. [9,10,11]

In Studien, welche die sozioökonomischen Auswirkungen der IRDs in den USA sowie in Kanada untersuchten, konnten erhebliche soziale und wirtschaftliche Auswirkungen festgestellt werden. Die Mehrheit der wirtschaftlichen Kosten bezieht sich auf die Einschränkungen der Erwerbstätigkeit und ökonomischer Produktivität der Betroffenen im arbeitsfähigen Alter. [6, 12]

Im Hinblick auf die erhöhte Mortalität und Morbidität der Betroffenen, häufigere und prolongierte Krankenhausaufenthalte, gehäuftes Auftreten psychischer Komorbiditäten, Verlust an Lebensqualität sowie aufgrund von Einschränkungen in der Erwerbsfähigkeit der Betroffenen spielt die Forschung und Entwicklung rund um die IRDs eine bedeutsame Rolle in der heutigen Medizin. [13]

1.1.7 Behandlung und Therapiemöglichkeiten der IRDs

Die Behandlung der meisten IRDs ist symptomatisch und beinhaltet augenärztliche Eingriffe, Refraktionskorrekturen, Anpassung von Hilfsmitteln, Optimierung der Sehschärfe sowie Prävention einer Amblyopie. Große Bedeutung hat dabei ein interdisziplinärer und multifaktorieller Behandlungszugang. [4]

In den vergangenen Jahren wurden zahlreiche Tierversuche durchgeführt, welche essenzielle Kenntnisse über die zugrundeliegenden Genmutationen und die damit verbundenen pathologischen und molekularbiologischen Entstehungsmechanismen der IRDs lieferten. Dank der neuen Kenntnisse über die pathophysiologischen, genetischen und molekularbiologischen Hintergründe der IRDs werden heutzutage zahlreiche neue Therapiestrategien für die Behandlung der bisher unheilbaren IRDs-Erkrankungen entwickelt. [13]

Mittlerweile ist die erste FDA- (Food and Drug Administration), EMA- (European Medicine Agency) und TGA- (Therapeutics Goods Administration) zugelassene Gentherapie für Patienten mit einer *RPE65*-assoziierten frühkindlichen Retinopathie verfügbar. Die Zulassung erfolgte im Jahr 2017 in den USA und im Jahr 2018 in der Europäischen Union. Darüber hinaus wird intensiv an weiteren innovativen Therapieansätzen für IRDs geforscht. [4,8]

1.2 Leber'sche kongenitale Amaurose

1.2.1 Prävalenz und klinische Symptome

Netzhautdystrophien gehören zu den führenden Ursachen der kindlichen kongenitalen Erblindung. Die LCA stellt dabei die schwerwiegendste Netzhautdystrophieform dar und ist für die Erblindung im mitunter sehr frühen Lebensalter verantwortlich. Sie betrifft im Durchschnitt 2-3 pro 100.000 Lebendgeburten, weltweit sind schätzungsweise etwa 180.000 Personen betroffen. In genetisch isolierten Gemeinschaften und in konsanguinen Populationen wird von einer höheren Prävalenz ausgegangen. [14]

Während die meisten LCA-Patienten und -Patientinnen innerhalb der ersten Lebensjahre Symptome entwickeln, weist ein sehr kleiner Teil des Patientenkollektivs in jungen Jahren eine normale bis nahezu normale Sehschärfe auf. [42]

Die Fundusuntersuchungen können in jungen Jahren des Patienten noch unauffällig sein. Im weiteren Krankheitsverlauf kommt es zu einer progressiven

Netzhautdegeneration, Anzeichen einer Pigmentretinopathie treten auf. Die verbleibende Sehfunktion verschlechtert sich im Jugendalter bzw. frühen Erwachsenenalter progressiv. Im vierten bis fünften Jahrzehnt erfüllen fast alle LCA-Patienten die WHO-Kriterien für Blindheit. [42]

Zu den klinischen Ausprägungen einer LCA gehören eine frühe schwerwiegende Visusminderung, ein Nystagmus, eine stark abgeschwächte bzw. nahezu gänzlich fehlende Pupillenreaktion (amaurotische Pupillenstarre), abnormale visuell evozierte Potenziale (VEPs) sowie gravierende Ganzfeld-Elektroretinogramm-Veränderungen bis hin zu einer ganz fehlenden Detektion im ERG. Zu den weiteren Symptomen, die mit der LCA assoziiert sind, zählen Refraktionsfehler, eine Fotophobie (Lichtscheue), eine Nyktalopie (Nachtblindheit), das Franceschetti okulodigitale Phänomen, ein Keratokonus (kegelförmige Vorwölbung der Hornhaut) und Katarakte. [14,15,16]

Beim Franceschetti okulodigitalem Phänomen kommt es zum repetitiven Stechen, Reiben und Drücken der Augen. Es handelt sich um ein selbststimulierendes Phänomen, bei welchem durch die Manipulationen am Auge Aktionspotenziale an der Netzhaut bzw. im optischen Nerv erzeugt werden und die betroffenen Kinder dadurch Lichtblitze wahrnehmen können. Dieses Phänomen wird häufig bei kleinen Kindern mit schwerer Sehbehinderung beobachtet und verschwindet in der Regel im Jugendalter. Zu den durch das okulodigitale Phänomen verursachten Komplikationen gehören Hornhautschäden wie etwa eine Hornhautektasie, bei der die Hornhaut sich verschmälert und nach außen vorsteht, sowie ein Enophthalmus, bei dem der Augapfel sich in die Augenhöhle zurückzieht. [16]

Zum Spektrum der kongenitalen Netzhautdystrophien mit Manifestation im Kindesalter gehört neben der LCA auch die in der klinischen Ausprägung etwas mildere EOSRD. Beide stellen zusammen die schwerwiegendsten Formen der kindlichen Netzhautdystrophien dar. Während die LCA jedoch meist durch eine seit der Geburt vorhandene oder sich in den ersten Lebensmonaten des Säuglings entwickelnde schwerwiegende Sehschwäche charakterisiert ist, kommt es bei der EOSRD typischerweise zu einer späteren Erstmanifestation. Die Reduktion der Sehkraft tritt dabei üblicherweise frühestens nach der Säuglingsperiode und spätestens vorm Erreichen des fünften Lebensjahres auf. Das Ausmaß der verbleibenden Sehfunktion kann bei der EOSRD individuell stark variieren. [2,17]

1.2.2 Publizierter Fallbericht

In dem im Jahr 2022 publizierten Artikel von Sangeetha et al. wurde ein 1,5-jähriger männlicher Patient mit mehreren ophthalmologischen Auffälligkeiten vorgestellt. Es handelte sich um ein leibliches Kind eines konsanguinen Paares (Konsanguinität III. Grades). Bei der Erstvorstellung berichteten die Eltern des Kindes von einer mangelnden visuellen Objektverfolgung des Kindes, welche bereits im frühen Säuglingsalter aufgefallen sei. Die mütterliche antenatale sowie perinatale Anamnese waren unauffällig. Bei der allgemeinen kindlichen Entwicklung konnten leichte Verzögerungen beim Erreichen der Entwicklungsmeilensteine beobachtet werden. [16]

In der klinischen Untersuchung fielen tiefliegende Augen, ein vertikaler Nystagmus und beidseitiges Außenschielen auf. Das Kleinkind übte zudem wiederholt einen prolongierten Daumendruck auf die Augen aus, kombiniert mit einem Augenstechen. Das Kind konnte außerdem keinen Augenkontakt halten und war nicht in der Lage, eine Lichtquelle zu fixieren bzw. zu verfolgen. Der Lidschlussreflex konnte beim schnellen Annähern nicht ausgelöst werden. Bei der Pupillenuntersuchung zeigten sich dilatierte Pupillen, die Lichtreaktion war deutlich verlangsamt. Die Fundusuntersuchung lieferte einen unauffälligen Befund. [16]

Differentialdiagnostisch wurde eine Sehbeeinträchtigung in Folge eines hypoglykämischen Gehirnschadens, einer intrauterinen Infektion sowie infolge einer IRD-Erkrankung in Betracht gezogen. Die neurologische Untersuchung des motorischen Systems war unauffällig. Die angeordnete Schädelmagnetresonanztomographie zeigte ebenso keine Pathologie, bei der Ermittlung der VEPs war jedoch keine Reizantwort vorhanden. [16]

In der Gendiagnostik konnte eine homozygote Nonsense-Variante im Exon 16 des *GUCY2D*-Gens detektiert werden, die zu einem Stopp-Codon und somit zum Abbruch der Proteinsynthese im Codon 984 führte (p.Cys984Ter). Die p.Cys984Ter-Variante des *GUCY2D*-Gens wurde leitlinienkonform als pathogenetische *GUCY2D*-assoziierte LCA-Variante klassifiziert. [16]

1.2.3 Genetische Ursachen

Charakteristisch für die LCA sind Ausfälle bei der Reizaufnahme und Reizweiterleitung innerhalb der Retina, die in weiterer Folge zur Verminderung des Sehvermögens und schließlich zur Blindheit führen. Das Erkrankungsspektrum ist charakterisiert durch einen schwerwiegenden kongenitalen bzw. frühmanifesten

Sehverlust, einen Nystagmus, amaurotische Pupillen sowie durch reduzierte oder fehlende Wellen im ffERG (Ganzfeldelektroretinographie). Den hier genannten Ausfällen liegen Mutationen in den fotorezeptorspezifischen Genen zugrunde. [13, 7, 15]

Die Vererbung erfolgt in den meisten Fällen autosomal rezessiv, es wurden jedoch auch dominante Erbgänge beschrieben (bei Mutationen im *IMPDH1*, *OTX2* und *CRX*). [1]

Zu den häufigsten Auslösern der Erkrankung gehören Mutationen in den Genen *CEP290*, *CRB1*, *GUCY2D*, *RDH12*, *RPE65*, *AIPL1*, *NMNAT1* und *TULP1*. [7, 15]

Basierend auf der letzten GeneReviews®-Revision (2023) der wissenschaftlichen Publikation „Leber Congenital Amaurosis/Early-Onset Severe Retinal Dystrophy Overview“ von Kumaran et al. sind derzeit 25 Gene bekannt, welche bei der Pathogenese des LCA/EOSRD-Spektrums eine Rolle spielen. Diese sind in Tabelle 1 aufgelistet. Sie scheinen einen entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung der retinalen Funktion zu haben. Mutationen in den mit der LCA in Zusammenhang stehenden Genen führen zu maßgebenden Funktionsstörungen, wie etwa Störungen der Fotorezeptorenmorphogenese (*CRB1*, *CRX*, *GDF6*), Störungen der retinalen Differenzierung (*OTX2*) oder Störungen der Fototransduktion (*AIPL1*, *GUCY2D*). Mutationen in den bisher bekannten Genen sind verantwortlich für ca. 75% aller LCA-Fälle. Das NGS bietet hierbei eine hervorragende Möglichkeit, neue für die LCA verantwortliche Gene bzw. Loci zu identifizieren [1,2]

Tabelle 1: LCA/EOSRD: assoziierte Gene

Gen	% - Anteil an allen LCA/EOSRD-Fällen	Klinische Merkmale		
		Visuelle Funktion	Fundus	Weitere Informationen
<i>AIPL1</i>	<5%	LCA: früher Sehverlust	Fundus kann im Säuglingsalter normal sein	OCT: relativer Erhalt der äußeren retinalen Struktur vor dem 5. Lebensjahr. Frühe Makulopathie bis hin zu totaler Makula-Atrophie
<i>CEP290</i>	15-20%	LCA: Variabel, meist jedoch schwere Visus-Beeinträchtigung; keine klare Progression in der ersten Dekade	Fundus kann im Säuglingsalter normal sein	OCT: Reste der äußeren Netzhautstruktur häufig bis zum 4. Lebensjahrzehnt vorhanden. Assoziiert mit Nephronophthise und Joubert-Syndrom

CRBI	10%	Phänotypen: LCA/EOSRD, RP & andere Schweregrad und Progression variieren signifikant	Variabel: Nummuläre Pigmentierung, Makulopathie oder relativer Erhalt des paraarteriolen RPE	OCT: retinale Verdickung und Schichtverlust wurden berichtet
CRX	1%	-	-	-
GUCY2D	10-20%	LCA: Früher Sehverlust, Fehlen des Farbempfindens, signifikante Photophobie. Beträchtliche verbleibende stäbchengesteuerte visuelle Funktionalität	Meist unauffällig	-
IFT140	?	-	-	Assoziiert mit Nephronophthie und Joubert-Syndrom
IMPDH1	5%	-	-	-
IQCB1	?	-	-	Assoziiert mit Nephronophthie und Joubert-Syndrom
LCA5	1-2%	-	-	-
LRAT	<1%	EOSRD: ähnlich wie bei RPE65-LCA	-	-
NMNAT1	?	LCA/EOSRD: Bei Mehrheit der Betroffenen früher Sehverlust; in wenigen Fällen milder Phänotyp.	Ausgeprägte Makulopathie	-
RD3	<1%	-	-	-
RDH12	10%	LCA-Phänotyp	<ul style="list-style-type: none"> ○ Frühe umfassende RPE-Atrophie ○ Minimale intraretinale Pigmentierung in früher Kindheit ○ Im Krankheitsverlauf Entwicklung dichter intraretinaler Knochenspikulapigmentierung ○ Frühe progressive Makula-Atrophie 	OCT: Makulaexkavation FAF: Autofluoreszenzverlust
RPE65	5-10%	Nächtliche Blindheit seit der Geburt, minimaler Nystagmus, mangelhafte Farbenunterscheidung bei verbleibender zapfenbedingter Sehfähigkeit in den ersten 3 Lebensdekaden mit progressiver Gesichtsfeldverlust	Blonde Netzhaut möglich, periphere weiße punktförmige Läsionen.	FDA-zugelassene Gentherapie verfügbar
RPGRIPI	5%	Initial rapider Abfall der Sehkraft, danach keine Progression	-	-
SPATA7	3%	-	-	-
TULP1	<1%	-	Makulopathie	-

Weitere bekannte Genmutationen: *ALMS1, CABP4, CLUAP1, DTHD1, GDF6, KCNJ13, OTX2, PRPH2*

Quelle: Kumaran et al., „Leber Congenital Amaurosis / Early-Onset Severe Retinal Dystrophy Overview“. GeneReviews®. Last Revision: March 23, 2023. [2]

Die bei einer LCA betroffenen Gene regulieren viele biochemische Prozesse, welche für die Sehfunktion von großer Bedeutung sind. In der Tabelle 2 sind die Funktionen der jeweiligen Gene aufgelistet. Das LCA/EOSRD-Spektrum ist genetisch stark heterogen. Aufgrund der breiten genotypischen Variabilität kommt es folglich zu einer klinischen Heterogenität bei LCA/EOSRD-Mutationsträgern. [1,2]

Tabelle 2: LCA: Affektierte Gene und Funktionen ihres Genproduktes

Gene	Funktion
<i>CEP290, IQCB1, LCA5, RPGRIP1, SPATA7, TULP1, IFT140</i>	Ziliärer Transport in Fotorezeptoren
<i>CRB1, CRX, GDF6, CLUAP1, PRPH2</i>	Photorezeptormorphogenese
<i>AIPL1, GUCY2D, RD3</i>	Phototransduktion
<i>LRAT, RDH12, RPE65</i>	Der visuelle Zyklus
<i>CABP4, KCNJ13</i>	Signaltransduktion
<i>OTX2</i>	Retinale Differenzierung
<i>IMPDH1</i>	Guanin-Synthese
<i>NMNAT1</i>	NAD-Biosynthese

Quelle: Chiu et al., „An Update on Gene Therapy for Inherited Retinal Dystrophy: Experience in Leber Congenital Amaurosis Clinical Trials“, 2021 [15]

1.2.4 Genetische Diagnostik

Im Rahmen der genetischen Diagnostik wird bei dem Verdacht auf eine Leber'sche kongenitale Amaurose eine ausführliche Familienanamnese erhoben. Von Interesse sind hierbei Erkrankungen mit einer Sehbeeinträchtigung bzw. einer manifesten LCA/EOSRD-Erkrankung, welche innerhalb von drei familiären Generationen aufgetreten sind. Auch eine mögliche Konsanguinität innerhalb der Familie ist anamnestisch relevant und wird erfragt. Die empfohlenen molekulargenetischen Testverfahren umfassen genspezifische Testansätze (Multigenpanel) sowie umfassende genomische Testverfahren wie eine Genomsequenzierung oder Exomsequenzierung. Bei genspezifischen Testverfahren, dem sogenannten „gene-targeting-testing“, kann ein bereits charakterisiertes, mit der LCA in Zusammenhang stehendes Gen als Ursache der Netzhautdystrophie des Patienten erkannt werden. Hierfür werden Multigenpanele verwendet, die diagnostisch Genvarianten

umfassen, welche bereits in der Vergangenheit als LCA/EOSRD-Ursache identifiziert wurden. Die Sequenzierung eines einzelnen Gens wird typischerweise nicht empfohlen. Genomische Testverfahren ermöglichen es, Gene zu identifizieren, welche bislang nicht mit der LCA in Verbindung gestanden sind. Als genomisches Testverfahren wird am häufigsten eine Exomsequenzierung verwendet, mit dem Fortschritt der Wissenschaft ist jedoch zunehmend auch eine Genomsequenzierung möglich. Im Rahmen dieser können auch nicht-kodierende Varianten als LCA-Ursache erkannt werden. So konnten beispielsweise pathogene Varianten in nichtkodierenden Regionen von *CRB1*, *GUCY2D* und *IFT140* bei Personen mit erblichen Netzhautdystrophien identifiziert werden. Führt die Exomsequenzierung zu keiner Diagnose, kann auch ein Exom-Array in Betracht gezogen werden. Mit diesem Testverfahren ist man in der Lage, Exomdeletionen oder Exomduplikationen zu erkennen, welche durch eine Sequenzanalyse nicht erkannt werden können. [2]

1.2.5 Molekularbiologischer Hintergrund der LCA-Erkrankung

***RPE65*-assoziierte LCA/EOSRD**

Beim *RPE65* handelt es sich um ein im retinalen Pigmentepithel vorkommendes Protein. Seine Mutationen stehen in Verbindung mit erblichen Netzhautdystrophien. Im Retinal-Retinol-Zyklus (auch als visueller Zyklus bezeichnet) ist *RPE65* für die Regeneration von 11-cis-Retinol verantwortlich. In einer Studie von Moiseyev et al. konnte bewiesen werden, dass *RPE65* im Retinal-Retinol-Zyklus als eine Isomerohydrolase agiert. Diese Funktion scheint dabei eine entscheidende Rolle im Retinal-Retinol-Zyklus zu spielen. Dabei wird mittels der Isomerohydrolase-Aktivität das all-trans-Retinylester in 11-cis-Retinol umgewandelt (siehe Abbildung 1). *RPE65* ist somit für den Vitamin-A-Metabolismus in diesem Zyklus verantwortlich. Diese Funktion von *RPE65* trägt folglich maßgeblich zum Verständnis der Pathogenese von Netzhautdystrophien, die im Zusammenhang mit *RPE65*-Mutationen stehen, bei. Biallelische Genvarianten erhöhen das Risiko für LCA/EOSRD. Das *RPE65*-Gen ist am Chromosom 1p31.2 lokalisiert. [7,18]

***GUCY2D*-assoziierte LCA/EOSRD**

Die *GUCY2D*-assoziierte LCA wird autosomal rezessiv vererbt. Das *GUCY2D*-Gen ist am Chromosom 17p13.1. lokalisiert und kodiert für das Photorezeptorenzym Guanylatzyklase D, welches sich in der Retina befindet und eine wichtige Rolle in der Phototransduktionskaskade spielt. *GUCY2D* wird stärker im äußeren Fotorezeptorsegment

der Zapfenzellen als der Stäbchenzellen exprimiert. Die *GUCY2D*-Mutation ist für 6-21% aller LCA-Fälle verantwortlich. [1,7]

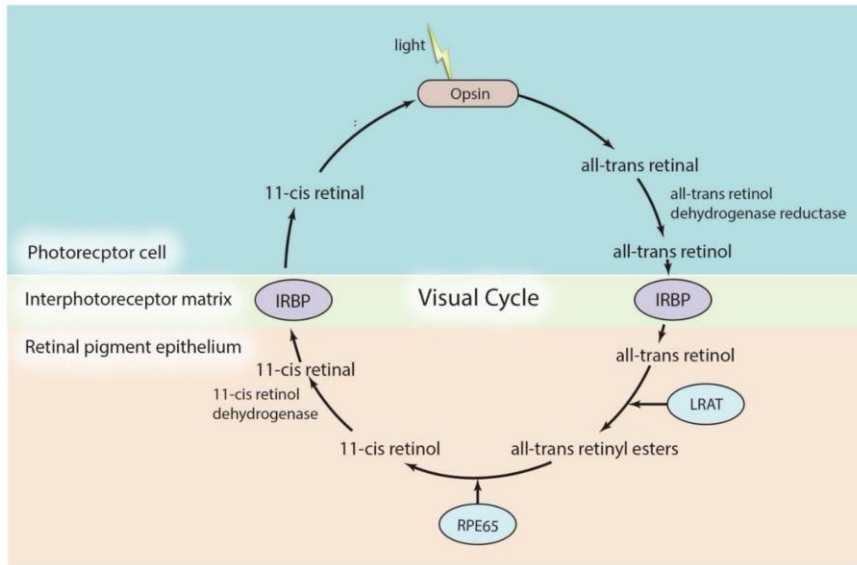


Abbildung 1: Retinal-Retinol-Zyklus (Visueller Zyklus)

Quelle: Chiu, 2021[15]

CEP290-assozierte LCA/EOSRD

Das *CEP290*-Gen ist am Chromosom 12q21.32 lokalisiert. Unter allen bekannten *CEP290*-Genvarianten ist die c.2991+1655>G intronische Variante am häufigsten für die Entwicklung einer LCA verantwortlich, die Häufigkeit liegt bei 58-77% aller *CEP290*-LCA-Fälle. Das *CEP290*-Gen kodiert für das zentrosomale CEP290-Protein, welches in den Fotorezeptoren lokalisiert ist und eine wichtige Rolle bei der Entwicklung, Stabilität und Funktion der Zilien spielt. Bei den Zilien handelt es sich um haarähnliche Strukturen, welche an der Oberfläche der Fotorezeptorzellen lokalisiert sind und maßgeblich an der retinalen Lichtdetektion und somit an der Sinneswahrnehmung beteiligt sind. Mutationen im *CEP290*-Gen sind ebenfalls mit systemischen Erkrankungen assoziiert, wie etwa dem Joubert-Syndrom, dem Senior-Løken-Syndrom und dem Meckel-Syndrom. [1,7,21]

CRB1-assozierte LCA/EOSRD

Das *CRB1*-Gen ist auf dem Chromosom 1q31.3 lokalisiert und kodiert für das CRB1, das Crumbs-Homolog-1-Protein. Dabei handelt es sich um ein großes Transmembranprotein, bestehend aus 37 intrazellulären Aminosäuredomänen, welches im inneren Segment der Fotorezeptorzellen und Müller-Zellen exprimiert wird und für eine adäquate Morphogenese in der Entwicklung der Netzhaut zuständig ist. *CRB1*-Mutationen sind mit zahlreichen retinalen Dystrophie-Erkrankungen, wie etwa mit der LCA, Retinitis pigmentosa, fovealer Retinoschisis und Makuladystrophie assoziiert und zeigen ein breites

Spektrum an phänotypischen Ausprägungen. Mutationen in der Calciumkation-bindenden EGF-ähnlichen Domäne sind häufig mit schwerwiegenden phänotypischen Ausprägungen assoziiert. Durchschnittlich 9-17% aller bekannten LCA-Fälle stehen im Zusammenhang mit *CRB1*-Mutation. Die Prävalenz ist dabei am höchsten in der chinesischen Population. [1,7,24,25]

***AIPL1*-assoziierte LCA/EOSRD**

Das *AIPL1*-Gen, welches auf dem 17p13.2-Chromosom lokalisiert ist, kodiert für das *AIPL1*-Protein (Aryl-hydrocarbon-interacting-protein-like 1). Dieses Protein spielt sowohl bei der Entwicklung der Fotorezeptoren als auch in der Phototransduktionskaskade eine wichtige Rolle. Sowohl die Zapfenfotorezeptoren als auch die Stäbchenfotorezeptoren exprimieren das *AIPL1* während ihrer retinalen Entwicklung. In der bereits entwickelten Retina setzen nur die Stäbchenfotorezeptoren die Expression fort. Missensemutationen und Stoppmutationen im *AIPL1*-Gen führen zum LCA-Phänotyp, eine Frameshift-Mutation hat einen milderen Phänotyp der juvenilen Retinitis pigmentosa zur Folge. Mutationen im *AIPL1*-Gen machen etwa 5% aller LCA-Fälle aus. [1]

1.2.6 Genotyp-Phänotyp-Korrelation

***RPE65*-assoziierte LCA/EOSRD**

RPE65-assoziierte LCAs/EOSRDs zeigen eine höhere Prävalenz in der kaukasischen und indischen Population als in der chinesischen Population. Patienten mit der *RPE65*-assoziierten LCA präsentieren sich mit einer schwerwiegenden Nachtblindheit, die seit der Geburt besteht. Etwa 10% der *RPE65*-assoziierten LCA-Fälle präsentieren sich bei der Erstdiagnose mit einer stark beeinträchtigten Sehkraft. In den ersten Lebensjahren tritt bei dieser Patientengruppe jedoch eine vorübergehende Besserung der Sehschärfe auf, bevor es schließlich zwischen dem zweiten und dritten Lebensjahrzehnt zu einem progressiven Fortschreiten der Sehbehinderung kommt. Bei Patienten, die genotypisch mindestens eine Nonsense-Variante aufweisen, ist die Netzhautempfindlichkeit deutlich schlechter. Zu den weiteren mit *RPE65*-Mutation in Verbindung stehenden ophthalmologischen Symptomen gehören eine Myopie und Katarakte. Häufig beobachtet werden Depigmentierungen und weißliche Ablagerungen außerhalb der Makula, eine Makulopathie sowie eine diffuse Netzhautdegeneration. Zu weiteren häufigen phänotypischen Ausprägungen gehören neben dem LCA-Phänotyp auch der EOSRD-Phänotyp, welcher eine mildere Symptomenausprägung und somit eine höhere Sehschärfe aufweist. [1,3,7]

***GUCY2D*-assoziierte LCA/EOSRD**

Patienten mit einer Mutation im *GUCY2D*-Gen präsentieren sich im Vergleich zu anderen mit LCA assoziierten Mutationen häufig mit einem normalen Fundus. Typisch für die Mutationsträger ist eine sehr schwache, jedoch stationäre Sehkraft in den frühen Lebensjahren. Charakteristisch sind bei den Betroffenen ebenfalls ein Nystagmus, das okulodigitale Phänomen sowie eine markante Photophobie. Häufige Begleitphänomene sind Katarakte und ein Keratokonus. Die Photophobie und die Tagblindheit sind im Vergleich mit anderen Mutationen schwerwiegender, die Nachtblindheit ist bei den Betroffenen im Gegensatz dazu jedoch im schwächeren Ausmaß ausgeprägt. Der zugrundeliegende Grund hierfür ist eine frühere und stärkere Dysfunktion der Zapfen im Vergleich zu der Stäbchendysfunktion in den frühen Stadien der Erkrankung. Nonsense-Mutationen und einige Missense-Mutationen resultieren in einem kompletten Ausfall der Enzymfunktion. In einer Studie von Bouzia et al. konnte nachgewiesen werden, dass Mutationen, welche das Exon 2 betreffen, einen milderen Phänotyp mit besserer Sehschärfe aufweisen. Das Exon 2 kodiert für die extrazelluläre Domäne. [1,7,19]

***CEP290*-assoziierte LCA/EOSRD**

Bei der *CEP290*-Mutation handelt es sich um die häufigste LCA-Ursache in der kaukasischen Population (15-30% aller LCA-Fälle), ihre Prävalenz in der chinesischen Population ist deutlich geringer. Die Sehkraft in den *CPE290*-assoziierten LCA-Fällen ist deutlich reduziert. Bereits zum Zeitpunkt der Geburt kommt es zu einer schwerwiegenden Sehbeeinträchtigung, meist ist lediglich eine schwache Lichtwahrnehmung möglich. Charakteristisch bei der *CEP290*-assoziierten LCA sind sowohl eine Photophobie als auch eine Hyperopie. [1,7]

***CRB1*-assoziierte LCA/EOSRD**

Patienten mit einer *CRB1*-assoziierten LCA weisen meist eine gut erhaltene Sehkraft auf, leiden jedoch meist unter einer Nachtblindheit und einer hochgradigen Hyperopie. [1,7]

***AIPL1*-assoziierte LCA/EOSRD**

Eine durch *ALPI*-Mutationen verursachte LCA gehört zu den schwerwiegendsten erblichen Netzhautdystrophien und ist durch eine frühe Makulopathie und eine schwere, von Geburt an bestehende Sehbehinderung charakterisiert. Die betroffenen Patienten leiden unter einer schwerwiegenden, rapiden und progressiven Sehbehinderung, bis schließlich bei den meisten Patienten nur eine Lichtwahrnehmung möglich bleibt. Zusätzlich präsentieren sich die Betroffenen mit einem Nystagmus, einer Fotophobie, einem

Keratokonius sowie mit posterioren subkapsulären Katarakten. In der Literatur sind keine Fälle bekannt, in welchen Patienten und Patientinnen mit einer *AIPL1*-LCA über das vierte Lebensjahr hinaus eine residuale äußere Netzhautstruktur aufweisen. [1,7]

1.2.7 Ophthalmologische Befunde bei Affektion jeweiliger Gene

RPE65-assozierte LCA/EOSRD

Bei einer *RPE65*-Mutation kommt es zu einer reduzierten oder gänzlich absenten Fundusautofluoreszenz. Als Ursache für dieses Phänomen wird eine niedrige Lipofuszinmenge im retinalen Pigmentepithel angenommen. Bei der optischen Kohärenztomographie (OCT-Untersuchung) kann man im zentralen Bereich eine erhaltene äußere Körnerschicht (ONL, outer nuclear layer) erkennen, die jedoch im Bereich der Fovea eine Verschmälerung zeigt. Somit bleibt bei Betroffenen der zentrale Makulabereich häufig erhalten, während um diesen herum ein auffallender retinaler Verlust bzw. eine Ausdünnung der äußeren Körnerschicht zu beobachten ist (siehe Abbildung 2). Die Zapfenfotorezeptoren sind meist gut erhalten. Bei Patienten über 30 Jahren nimmt die Netzhautdicke, insbesondere die Dicke der äußeren Körnerschicht, zunehmend ab und es kommt zum Verlust der Netzhautlaminiierung. Weiterhin sind in der OCT hyperflektierende Ablagerungen oberhalb des RPE erkennbar, welche in der Fundoskopie als weiße Pünktchen sichtbar sind. Im ERG wird eine verminderte Stäbchenreaktion beobachtet. Im Spätstadium der Erkrankung kann sich eine Pigmentretinopathie entwickeln. [1,7]

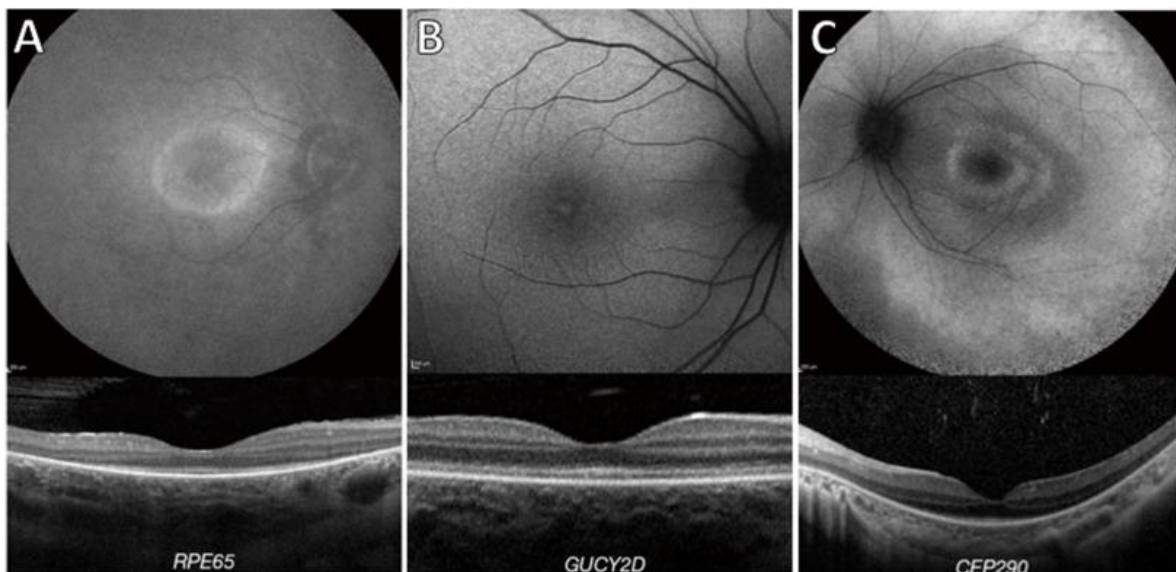


Abbildung 2: FAF-Bildgebung und OCT-Messung bei Patienten mit *RPE65*-, *GUCY2D*- und *CEP290*-Mutation

A=RPE-Mutation → OCT: erhaltene Struktur im zentralen Makulabereich, FAF: reduziertes Signal
B=GUCY2D-Mutation → OCT: erhaltene äußere retinale Struktur, unauffällige FAF
C=CEP290-Mutation → OCT: erhaltene foveale Architektur, FAF: perifovealer Hyperautofluoreszenzring
Quelle: Georgiou et al., 2024 [7]

GUCY2D-assoziierte LCA/EOSRD

Trotz einer schweren Sehbeeinträchtigung bleibt bei den meisten LCA/EOSRD-Fällen mit einer *GUCY2D*-Mutation die äußere Netzhautstruktur in der OCT verhältnismäßig gut erhalten, das ONL weist kaum Veränderungen auf (siehe Abbildung 2). Die Fotorezeptor-Ellipsoidzone ist intakt, zeigt jedoch in der OCT eine reduzierte Intensität. Die ONL-Dicke im Bereich der Fovea scheint sich progredient zu verringern, mit einer durchschnittlichen Rate von 0.90µm/Jahr. Die Fundusuntersuchung und die Autofluoreszenz (siehe Abbildung 2) liefern meist nahezu unauffällige Ergebnisse, das zentrale RPE kann jedoch pathologische Veränderungen aufweisen und eine periphere Pigmentablagerung kann bereits ab der dritten Lebensdekade auftreten. [1,7]

CEP290-assoziierte LCA/EOSRD

Der Fundus ist in der Mehrheit der *CEP290*-assoziierten Fälle unauffällig. Mit fortschreitendem Alter kann es zur Ausbildung von polymorphen weißen Flecken und zur Pigmentretinopathie kommen. Die FAF-Bildgebung zeigt bei den Betroffenen einen perifovealen Hyperautofluoreszenzring sowie bei älteren Patienten und Patientinnen Areale mit einem reduzierten Signal (siehe Abbildung 2). Trotz einer schweren Zapfenfunktionsstörung bleibt die foveale Architektur und Integrität der Ellipsoid-Zone bei manchen Patienten bis zur vierten Lebensdekade erhalten, die inneren und äußeren Segmente können jedoch in der OCT-Untersuchung Anomalien aufweisen. Die ONL-Dicke ist im paramakulären Bereich bis auf ein Drittel der normalen ONL-Dicke reduziert. Es kommt zu einem frühen Verlust der Stäbchen-Fotorezeptoren. [1,7]

CRB1-assoziierte LCA/EOSRD

In ophthalmologischen Untersuchungen lassen sich typischerweise nummuläre Pigmentierungen und eine progressive Makulaatrophie feststellen. Charakteristisch ist ein relativer Erhalt des paraarteriolären RPE. Das ffERG resultiert oft in einer absenten Signaldetektion bzw. in hochgradig abnormen Befunden. Die üblichen Befunde im FAF bzw. in der OCT sind intraretinale zystoide Areale, eine Makulopathie, eine retinale Verdickung und ein Verlust der Laminierung. [1,7]

1.2.8 Allgemeines Therapiemanagement bei der LCA

Der aktuelle Behandlungsansatz bei den meisten LCA/EOSRD-Betroffenen basiert auf einer symptomatischen Therapie. Zu den grundlegenden Behandlungsmaßnahmen zählen dabei die Therapie der mit LCA assoziierten Komplikationen, wie etwa die Behandlung einer Linsentrübung, die Behandlung von Abnormalitäten im Bereich der vitreoretinalen Grenzschicht sowie die Behandlung vom zystischen Makulaödem. [2,7]

Ein weiterer Teil des Therapiemanagements basiert auf der Optimierung des Lebensstils und der Ernährung. Da Rauchen mit einer Netzhautschädigung assoziiert ist, wird den betroffenen Patienten empfohlen, rauchbelastete Umgebungen zu meiden und selbst nicht zu rauchen. [7]

Darüber hinaus gehört zum Therapiemanagement die Versorgung der Patienten und Patientinnen mit einer optimalen Sehhilfe sowie mit anderen Unterstützungstechnologien. Refraktionsstörungen sollten korrigiert werden. Patienten werden häufig darauf hingewiesen, eine intensive Sonnenexposition zu meiden und Sonnenbrillen zu tragen, welche ultraviolettes Licht abweisen können. [2,7]

Bei Patienten mit jenen Genotypen, welche mit renalen Funktionsstörungen assoziiert sind (z.B. bei *CEP290*- und *IQCB1*-assoziierten LCAs), ist eine regelmäßige renale Funktionsüberprüfung empfohlen. [7]

Die Wirkung einer Vitamin-A-Gabe sowie einer Mineralstoff-Supplementierung und Aminosäuren-Supplementierung konnte nicht nachgewiesen werden, weswegen diese nicht in der LCA/EOSRD-Behandlungsempfehlung enthalten sind. [7]

Betroffene Säuglinge und Kleinkinder können aufgrund einer schwerwiegenden Sehstörung bei der LCA/EOSRD Sprachstörungen, Verhaltensauffälligkeiten sowie Schwierigkeiten in sozialen Interaktionen entwickeln, wodurch eine multidimensionale und interdisziplinäre Behandlung als Kombination mehrfacher medizinischer Felder erforderlich sein kann. Zudem wird es empfohlen, betroffene Kinder und ihre Erziehungsberechtigten in Unterstützungsprogramme für sehbeeinträchtigte Kinder zu inkludieren. Kinder mit Entwicklungsverzögerung sollten zusätzlich von einem in Entwicklungsverzögerungen spezialisierten Kinderarzt betreut werden. [2,7]

Eine solche vielseitige, symptomorientierte Therapie kann es den Betroffenen ermöglichen, eine Ausbildung zu absolvieren, den Alltag zu bewältigen sowie einen Beruf ausüben zu können. [2,7]

1.2.9 Gentherapeutische Möglichkeiten / Klinische Studien zur Gentherapie

RPE65-assozierte LCA/EOSRD

Die *RPE65*-assozierte retinale Dystrophie befindet sich im Zentrum intensiver medizinischer Therapieforschung. Die erste Gentherapie für Patienten mit einer *RPE65*-assozierten frühkindlichen Retinopathie wurde bereits zugelassen. Es handelt sich dabei um eine Therapie mit Luxturna® (Wirkstoff Voretigen neparvovec, VN-(AAV)). Von bisherigen Erfolgen wurde auch im Rahmen einer laufenden Phase-I/II-Studie berichtet (Trial-ID: NCT02946879, AAV2/5-OPTIRPE65), die ebenfalls, wie die Therapie mit Luxturna®, adeno-assozierte virale Vektoren verwendet. [7]

GUCY2D-assozierte LCA/EOSRD

Aktuell läuft eine Phase-I/II-Gentherapiestudie (NCT03920007) zur subretinalen Verabreichung von SAR439483 (AAV5-vermittelte Therapie). [7,20]

CEP290-assozierte LCA/EOSRD

In einer aktuell laufende Phase-I/II-Studie (AGN-151587(EDIT-101), NCT03872479) liegt das Hauptaugenmerk auf einem CRISPR/Cas9-basierten Behandlungsansatz für *CEP290*-assozierte LCA-/EOSRD-Fälle. Bei diesem Therapieansatz erhalten die Probanden eine okuläre Injektion mit dem Geneditierungskomplex Edit-101. Das primäre Ziel dieses Therapieansatzes ist die Wiederherstellung einer normalen *CEP290*-Expression. [7,21,22]

Einen weiteren Therapieansatz bei einer *CPE290*-assozierten LCA/EOSRD bietet eine Phase-II/III-Studie (Sepofarsen (QR-110), NCT03913143). Gegenstand dieser Studie ist eine AON-vermittelte Therapie. Das Therapieziel ist dabei eine Verhinderung der Einfügung des mutierten *CEP290*-Pseudoexons in die mRNA. Beim verwendeten Wirkstoff handelt es sich um QR110 (Sepofarsen). [7,23]

CRB1-assozierte LCA/EOSRD

Aufgrund der umfangreichen Größe des *CRB1*-Proteins ist die Entwicklung einer Gentherapie erschwert. Neue Therapieansätze mit AAV-Vektoren mit kleinen Promotoren könnten jedoch die Expression des *CRB1*-Proteins in Müller-Gliazellen ermöglichen. Der Versuchsbeginn wird erwartet. [7,26]

AIPL1-assozierte LCA/EOSRD

Da nach dem vierten Lebensjahr keine äußere Retinastruktur mehr vorhanden ist, ist das mögliche therapeutische Fenster für Patienten und Patientinnen mit einer *AIPL1*-

Mutation eng. Aktuell läuft eine sogenannte „Compassionate-Use-Gentherapie-Studie“ mit dem Ziel, bei Kleinkindern und Säuglingen eine retinale Reststruktur zu erhalten. [7]

1.2.10 Optogenetische Therapieansätze

Das Ziel der optogenetischen Behandlungsansätze ist es, bei sekundären bzw. tertiären Neuronen der Netzhaut eine Lichtempfindlichkeit zu erzeugen und degenerierte und dysfunktionale retinale Fotorezeptoren zu ersetzen. Optogenetische Therapieansätze haben in präklinischen Studien vielversprechende Erfolge gezeigt. Aktuell läuft eine Phase-I/II klinische Studie (NCT02556736), Gegenstand welcher eine optogenetische Behandlung bei Patienten und Patientinnen mit Retinitis pigmentosa ist. In der medizinischen Wissenschaft und präklinischen Forschung zur Optogenetik konnten auf diesem Gebiet bedeutsame Fortschritte erzielt werden. Das ideale optogenetische Molekül, der ideale Vektor, sowie der ideale chirurgische Ansatz müssen jedoch noch etabliert werden. [27]

2 Material und Methoden

2.1 Forschungsfrage

Der Schwerpunkt dieser Literaturlarbeit liegt auf der Zusammenfassung der derzeit verfügbaren genterapeutischen Behandlungsansätze bei der LCA. Die Arbeit soll einen strukturierten Überblick über die bisherigen Therapieerfolge geben und die Risiko-Nutzen-Abwägung in Bezug auf die verfügbaren Therapien kritisch beleuchten. Ferner wird eine Übersicht über die aktuell laufenden klinischen Studien zu genterapeutischen Therapieansätzen verschafft. Die Arbeit soll die bisherigen Therapieerfolge und Forschungserfolge resümieren und über zukünftige Genterapieentwicklungen und Erfolgsaussichten der Genterapie bei der LCA sowie anderen IRDs reflektieren. Die Ergebnisse werden hauptsächlich über das Maß der Verbesserung des klinischen Zustandsbildes der therapierten Patienten und Patientinnen mit LCA evaluiert.

2.2 Methodenwahl

Diese Arbeit wird als Literatur-Review geführt. Dafür wurden existierende wissenschaftliche Arbeiten qualitativ zusammengefasst und evaluiert, mit dem Ziel einer umfassenden Darstellung des Forschungsstandes zur Fragestellung dieses Reviews. Die Arbeit wird als narratives Literatur-Review geführt, bei welchem der Überblick über das Arbeitsthema sowie die Akkumulation der Evidenz zum Thema im Vordergrund des Schreibens stehen. Geplante Beurteilungstools sind die Extraktion und Synthese der Daten mittels einer narrativen Zusammenfassung.

2.3 Datenerhebung

Für die Erstellung dieser Literaturlarbeit wurde im August 2024 eine systematische Literaturrecherche durchgeführt, welche kontinuierlich im Laufe der Diplomarbeiterstellung durch neue Studienergebnisse ergänzt wurde.

Die Methode der Datenerhebung besteht in einer gründlichen und ausführlichen Literaturrecherche. Bei der Suche nach geeigneten wissenschaftlichen Publikationen und Fachpublikationen wurden dabei die Datenbanken MEDLINE und Cochrane Library durchsucht, um einen möglichst hohen Recall an relevanten Ergebnissen zu erzielen. Hierfür wurden die Suchmaschinen PubMed und Google Scholar benutzt, sowie Suchfunktionen der Cochrane Library wie Advanced Search und Search Manager. Um relevante Artikel leichter zu identifizieren und thematisch gezielte Suchanfragen zu

erlauben, wurde bei der Literaturrecherche das Medical Subject Headings (MeSH) verwendet, mit dem Ziel, die Präzision der Suchanfragen zu erhöhen. Zusätzlich wurde in Fachbüchern und Fachzeitschriften nach relevanten Fakten recherchiert. Nach der ausführlichen Datenbankrecherche der erwähnten Datenbanken wurden die wissenschaftlichen Publikationen und Fachpublikationen anschließend ausgewertet.

3 Ergebnisse

3.1 Molekulargenetischer Mechanismus der AAV-vektorbasierten Gentherapie

3.1.1 AAV-Genomstruktur

Die adeno-assoziierten Vektoren werden als leitende Vektoren in der Gentherapie verwendet. Sie leiten sich von den adeno-assoziierten Viren (AAV) ab, die in den 1960er Jahren entdeckt wurden. Bei diesen handelt es sich um kleine, unbehüllte Viren der Parvoviridae-Familie mit einem 4,7kb-einzelsträngigen DNA-Genom. Sie wurden in den 1960er Jahren entdeckt. Die AAV brauchen für ihre Vermehrung die Unterstützung anderer, nicht verwandter Viren, wie z.B. der Adenoviren oder Herpes-simplex-Viren. Aus diesem Grund wurden sie adeno-assoziierte Viren genannt. [28,29]

Die AAV bestehen aus einem sehr kleinen viralen Genom und einem Proteinkapsid, welches das virale Genom umgibt und transportiert. Das Kapsid ist zudem für eine Zellinfektion verantwortlich und ermöglicht die Abgabe des Genoms an die Zielzellen. An beiden Genomenden ist eine palindromische Sequenz lokalisiert. Bei diesen handelt es sich um invertierte terminale Wiederholungen (ITRs, „inverted terminal repeats“). Die Hauptaufgabe der ITRs ist der Schutz des viralen Genoms in der Wirtszelle. Ferner gehören zu den ITRs-Aufgaben die Genomreplikation und die Verpackung des neuereplizierten Genoms in AAV-Kapside. [28,29]

Die Hauptbestandteile des AAV-Genoms sind zwei Gene, das rep-Gen (Replikationsproteingen) und das cap-Gen (Kapsidproteingen) (siehe Abbildung 3). Das rep-Gen kodiert für die Proteine Rep78, Rep68, Rep52 und Rep40, welche als Transkriptionsaktivatoren und Transkriptionsrepressoren fungieren und für eine Integration des AAV-Genoms in das Genom der Wirtszelle sowie für die Genom-Replikation in der Wirtszelle zuständig sind. Die Rep-Proteine sind somit ausschlaggebend für die Ausbildung neuer viraler Partikel. Das cap-Gen kodiert für drei virale Kapsidproteine, VP1, VP2 und VP3. Ihre Hauptaufgabe ist die Kapsidbildung. Je fünf VP1-, fünf VP2- und fünfzig VP3-Proteine assemblieren sich hierbei zu einem AAV-Kapsid. Im cap-Gen ist zusätzlich ein offener Leserahmen enthalten, der für das AAP („assembly-activating protein“, das assemblierungsaktivierende Protein) kodiert. Das AAP unterstützt zusätzlich den Assemblierungsprozess und ist für eine richtige Kapsid-Formierung zuständig. Das cap-Gen kodiert zudem für 2 weitere Nichtstrukturproteine, das MAAP („membrane associated accessory protein“) und das Protein X, welche wie das AAP bei der

Virusvermehrung von Bedeutung sind. Die Genexpression bei den AAVs ist durch drei Promotoren kontrolliert: p5, p19 und p40. Ihre Aufgabe ist es, die Funktion von cap- und rep-Proteinen zu steuern [28,29].

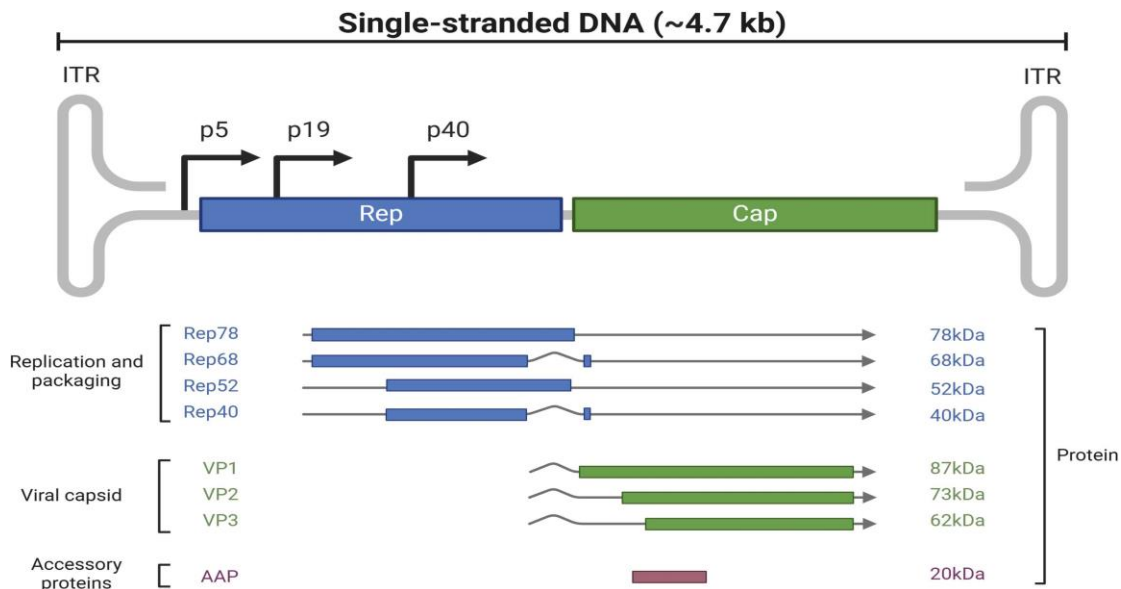


Abbildung 3: Adeno-assoziierte Viren: Genomaufbau

Die einzelsträngige DNA besteht aus 2 Schlüsselbereichen, dem rep-Gen und dem cap-Gen. Das Rep-Gen kodiert für die Proteine Rep78, Rep68, Rep52 und Rep40, welche an der Replikation und Genomverpackung beteiligt sind. Das cap-Gen kodiert für die Proteine VP1, VP2 und VP3, die für die Kapsidbildung zuständig sind. Ein zusätzlicher offener Leserahmen des cap-Gen kodiert für das assemblierungsaktivierende Protein (AAP), welches an der Assemblierung des Kapsids beteiligt ist. Die Genexpression wird durch drei Promotoren reguliert (p5, p19, p40).

Quelle: Dequan et al., 2024, [28]

Das Hauptwirkungsprinzip der AAV-Gentherapie besteht darin, die therapeutischen Gene direkt in die Zielzellen des Körpers zu transportieren. Dies passiert in mehreren Schritten. Zunächst müssen der geeignete AAV-Serotyp sowie der effektivste Verabreichungsweg ausgewählt werden. Danach müssen eine präzise Abgabe der viralen Vektoren an die gewünschten Zellen sowie eine anhaltende Expression der therapeutischen Gene sichergestellt werden. Durch diese Mechanismen soll es zu einer Therapie der Erkrankung kommen. [28]

3.1.2 Serotypen-Auswahl

Die adeno-assoziierten Viren werden in Serotypen klassifiziert. Die einzelnen Serotypen weisen dabei Unterschiede in der Aminosäuresequenz der Kapsidproteine auf.

Während einer Zellinfektion verwenden die AAVs, abhängig von den vorhandenen Serotypen, verschiedene Rezeptoren. Trotz der Tatsache, dass die Affinität verschiedener Serotypen an unterschiedliche Zelltypen sehr hoch ist, zeigten sich Unterschiede der Transduktionseffizienz in Abhängigkeit des jeweiligen Serotyps. So zeigt der AAV1-Serotyp eine besonders starke Affinität zu Skelett- und Herzmuskelzellen und ist somit ideal für die Behandlung von Muskeldystrophien geeignet. Serotyp AAV2 wird aufgrund seiner starken Affinität zu retinalen Pigmentepithelzellen in den ophthalmologischen Gentherapien eingesetzt. Die Serotypen AAV2 und AAV9 zeigen eine besonders gute Transduktion im ZNS, was für die Behandlung von neurodegenerativen Erkrankungen wie der spinalen Muskelatrophie entscheidend ist. Serotyp AAV3 zeigt eine besonders gute Transduktion im Innenohr. Serotyp AAV8 zeigt eine hohe Transduktionseffizienz in der Leber, weshalb dieser Serotyp für die gentherapeutische Behandlung von Stoffwechselerkrankungen wie der Hämophilie anwendbar ist. Serotyp AAV5 zeigt eine hohe Affinität zum Atemwegsepithel. Dies wiederum hat eine hohe Relevanz für die gentherapeutische Behandlung von Atemwegserkrankungen wie Mukoviszidose. Durch diese Erkenntnisse zeigt sich deutlich, dass die Auswahl eines geeigneten Serotyps entscheidend für den Therapieerfolg der Gentherapeutika ist. Die Zellinfektion unterliegt trotz dieser Unterschiede dem gleichen Mechanismus. [28,29]

3.1.3 Verabreichungsweg

Die Wahl der Verabreichungsart ist krankheitsabhängig und zielgewebeabhängig. Die häufigsten Verabreichungswege für Gentherapien sind intravenöse, intrathekale, intraparenchymale und okuläre Injektionen. Intravenöse Injektionen finden ihre Verwendung vor allem bei systemischen Erkrankungen, wodurch eine breite Vektorverteilung bei Erkrankungen wie Hämophilie erreicht werden kann. Eine intrathekale Injektion, bei der der Vektor in die Spinalflüssigkeit appliziert wird, eignet sich besonders gut für die Behandlung von ZNS-Erkrankungen. Intraparenchymale Injektionen werden bei der Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen eingesetzt. Hierbei kann der AAV-Vektor direkt ins Parenchym des Hirngewebes appliziert werden. Okuläre Injektionen können suprachoroidal, subretinal oder intravitreal verabreicht werden. Intravitreale Injektionen werden an die Netzhaut abgegeben, subretinale Injektionen direkt an die Fotorezeptoren und suprachoroidale Injektionen werden zwischen der Sklera und der Aderhaut appliziert. [28]

3.1.4 Zellinfektion durch das AAV

Während des Zellinfektionsprozesses des adeno-assoziierten Virus kommt es zunächst zur Andockung des AAV-Kapsids an spezifische Bestandteile der extrazellulären Matrix. Typischerweise handelt es sich hier um AAV-serotypspezifische glykosylierte Proteine wie HSPGs (Heparansulfat-Proteoglykan), oder um sialinsäurehaltige Glykoproteine. Die Aufnahme in die Wirtszelle geschieht im nächsten Schritt über eine Rezeptorvermittelte Endozytose. Die viralen Partikel werden endosomal durch das Zytosol der Wirtszelle zum perinukleären Bereich transportiert. Während dieses Transportes kommt es aufgrund der sauren endosomalen Umgebung zu Kapsidkonformationsänderungen. Infolge dieser werden N-terminalen Bereiche der VP1 und VP2 auf die Kapsidoberfläche verlagert, wodurch sie nun ihre Funktion im Zellinfektionsprozess entfalten können. Entscheidend ist dabei die Phospholipaseaktivität, die es den viralen Partikeln ermöglicht, das endosomale System zu verlassen und ins Zytoplasma zu gelangen. Um aus dem Zytoplasma in den Zellkern zu gelangen, benötigt das AAV die Hilfe von wirtzelleneigenen Proteinen, wie etwa von AAVR („adeno associated virus receptor 1“) und von GPR108 („G Protein-coupled receptor 108“). Im Zellkern wird schließlich das virale Genom aus dem Kapsid freigesetzt. Die weiteren Schritte der Zellinfektion sind davon abhängig, ob sich in der Wirtszelle Helferviren befinden oder nicht. Unter Anwesenheit der AAV-Helferviren (z.B. der Adenoviren) kann es zu einer AAV-Vermehrung kommen. Das einzelsträngige Genom wird in einen DNA-Doppelstrang umgeformt und eine Transkription und Translation viraler Gene wird eingeleitet. Neue Kapside werden assembliert und versehen mit viralem Genom mithilfe der Helferviren aus der Wirtszelle freigesetzt. Sind keine Helferviren in der Wirtszelle vorhanden, kommt es zu einem Latenzzustand. Dabei kann entweder das virale Genom in die Wirtszelle integriert werden, oder extrachromosomal in Form eines Episoms verbleiben. Wird die Wirtszelle vom passenden Helfervirus infiziert, sind die AAVs in der Lage, den Vermehrungszyklus zu starten. [28,29]

3.1.4.1 AAV-Vektoren

Adeno-assoziierte Vektoren stellen das führende Mittel in der Gentherapie verschiedener humaner Erkrankungen dar. Dabei werden sie als Genfähre benutzt, um das sogenannte „Gene of interest“ in die Zelle zu transportieren. Als Ausgangspunkt für einen entsprechenden Vektor wird das virale Kapsid verwendet. Beim Vektorgenom wird im Vergleich zum Virusgenom der komplette virusgenkodierende Bereich durch eine

Genexpressionskassette ausgetauscht. Diese enthält einen Promotor, ein Polyadenylierungssignal (Poly-A-Signal) sowie das „Gene of interest“, welches in die Zelle eingeschleust werden soll (das Transgen). Der Promotor steuert die Genexpression, das Poly-A-Signal markiert das Genende. Die ITR-Sequenzen am 3′-und 5′-Ende des Vektorgenoms gewährleisten die Beladung des Kapsids, sind zuständig für eine langfristige Persistenz der Episomen in der Wirtszelle und stellen das Triebwerk der Rekombination dar. Die AAV-Vektoren-Transduktion in die Zielzelle erfolgt nach dem gleichen Mechanismus wie die AAV-Zellinfektion (siehe Abbildung 4). Nach der Freisetzung des Vektorgenoms im Zellkern kommt es während der Transduktion bevorzugt zu einer Episombildung. Bei Episomen handelt es sich um extrachromosomale DNA-Abschnitte, die als Matrize für die Genexpression dienen. [28,29]

AAV-Vektoren eignen sich sehr gut für eine Gentherapie bei Menschen, hauptsächlich aufgrund ihrer geringen Toxizität, ihrer Fähigkeit, sowohl replikationskompetente (teilungsfähige) als auch replikationsdefiziente (nicht teilungsfähige) Zellen zu transduzieren, sowie der Tatsache, dass sich die AAV-Vektoren nicht in das Wirtsgenom integrieren. [56]

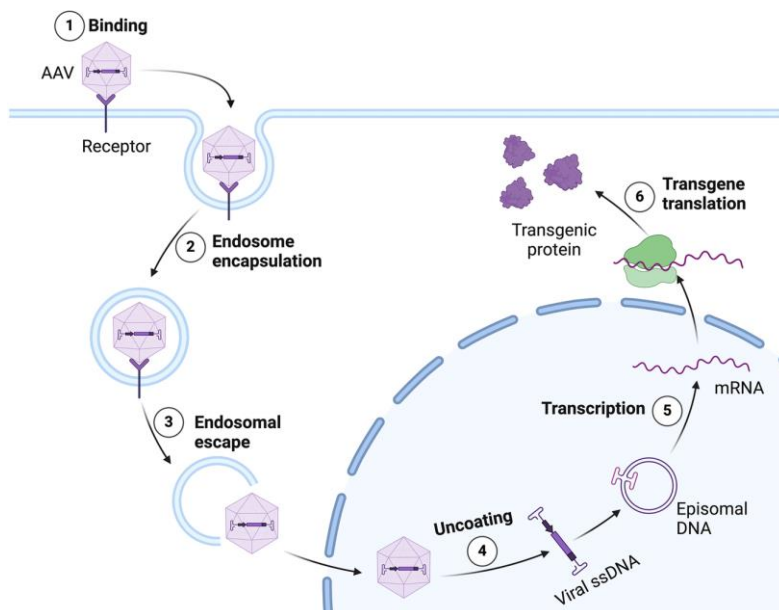


Abbildung 4: Transduktionsmechanismus bei AAV-Vektoren

Nach der Verabreichung einer Gentherapie bindet das Kapsid an die Zellmembran der Zielzellen (1). Das rAAV-Kapsid wird durch Endozytose in die Zelle aufgenommen und endosomal durchs Zytosol transportiert (2). Nach der Freisetzung aus dem Endosom (3) wird der Vektor durch Kernporen in den Zellkern importiert. Das Kapsid wird nun abgebaut, wodurch die Vektor-ssDNA im Zellkern freigelegt wird (4). Eine doppelsträngige DNA wird gebildet. Sobald sich die Vektor-DNA in episomale DNA umgewandelt hat, wird sie transkribiert (5) und die resultierende mRNA wird in das Zytoplasma transloziert. Hier kommt es zur Translation des Transgens (6), wodurch das Protein von Interesse entsteht. Quelle: Baylot et al., 2024 [33]

Die AAV-Vektoren werden in Produktionszelllinien erzeugt. In der Regel werden dabei die HEK293-Zellen oder Insektenzellen verwendet. Die HEK293-Zellen werden zusammen mit dem viralen AAV-Helferplasmid, welches rep- und cap-Gene beinhaltet, mit dem Vektorgenom sowie mit dem adenoviralen Helferplasmid transfiziert. [29]

3.1.5 AAV-vermittelte Gentherapie

Das Ziel der Gentransfertherapie ist es, eine Krankheit zu behandeln, indem ein funktionstüchtiges Gen der Zelle zugefügt wird, um ein fehlendes oder mutiertes Gen zu kompensieren. Folglich kann es zur Produktion eines funktionstüchtigen Genproduktes kommen. Idealerweise führt dabei die Therapie zu einer langfristigen Behandlungswirkung. Bei der Gentransfertherapie wird ein Transgen durch lokale oder systemische Verabreichung direkt in den Körper eingeführt. [31]

Bisher (zum Zeitpunkt März 2025) wurden insgesamt sechs AAV-vektorbasierte Gentherapien zugelassen. Diese sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tabelle 3: Zugelassene AAV-Gentherapeutika

Gentherapeutikum	Wirkstoff	AAV-Serotyp	Indikation
Glybera®	Alipogene Tiparvovec	AAV1	Hyperlipoproteinämie Typ 1
Zolgensma®	Onasemnogen Aberparvovec	AAV9	Spinale Muskelatrophien
Upstaza®	Eladocogene Exuparvovec	AAV2	Aromatischer-L-Aminosäure-Decarboxylase-Mangel
Roctavian®	Valoctocogen Roxaparvovec	AAV5	Hämophilie A
Hemgenix®	Etranacogen Dezaparvovec	AAV5	Hämophilie B
Luxturna®	Voretigen Neparvovec)	AAV2	RPE65-assoziierte Netzhautdystrophie

Quelle: Jäschke, „AAV-Vektoren – die imposante Karriere eines Parvovirus“ [29]

3.2 Therapie der RPE65-assoziierten LCA mit Voretigen Neparvovec (Luxturna®)

3.2.1 Struktureigenschaften

Bei dem Präparat Voretigen Neparvovec (Luxturna®) handelt es sich um einen Gentransfervektor, welcher das adeno-assoziierte virale Vektor-Serotyp-2-Kapsid (AAV2) als Transportvehikel für die cDNA des humanen retinalen Pigmentepithel-65-kDa-Proteins

(hRPE65) verwendet. Voretigen neparvovec (AAV2-hRPE65v2) wird mithilfe rekombinanter DNA-Techniken aus dem natürlich vorkommenden adeno-assoziierten Serotyp-2-Virus hergestellt. Dieser wird nach dem heutigen Wissensstand nicht mit menschlichen Krankheiten in Verbindung gebracht. Das Serotyp-2-adeno-assoziierte Virus ist von Natur aus nicht in der Lage, eine eigenständige Replikation durchzuführen. Es ist an eine Koinfektion mit Helferviren angewiesen. [32]

Bei der Voretigen-Neparvovec-Herstellung wird das AAV2-Wildtypgenom durch eine Transgenexpressionskassette ersetzt. Das Kassettdesign enthält die genomische RPE65-Sequenz mit allen drei Exons und zwei Introns (siehe Abbildung 5).

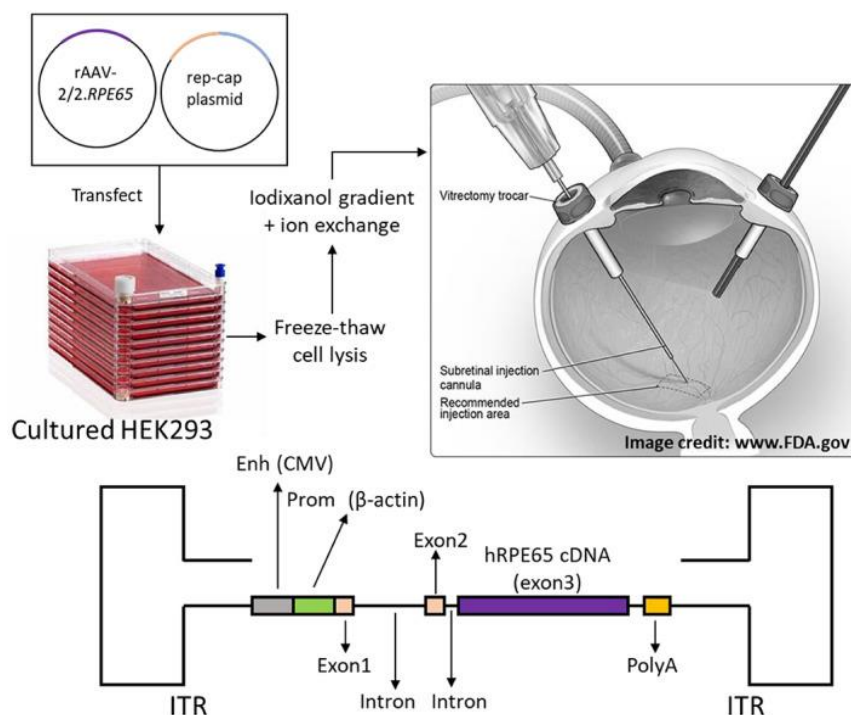


Abbildung 5: Voretigen neparvovec: Vektordesign

Quelle: Papaioannou, 2023 [36]

Eine effiziente Expression auf hohem Niveau wird durch ein künstliches Promotor-Enhancer-Paar gewährleistet, welches durch die Verbindung des Hühner- β -Actin-Promotors mit dem Cytomegalovirus-Enhancer und mit einer künstlichen Polyadenylierungssequenz entsteht. Die für die Genomverpackung sowie für die Genexpression maßgebenden ITRs bleiben, wie beim AAV2-Wildtyp, an beiden Flanken enthalten. Das Kapsid von Voretigen neparvovec besteht aus 60 viralen Kapsidproteinen (VP1, VP2 und VP3 im Verhältnis von 1:1:8), welche für die Bildung einer ikosaedrischen Kapsidform zuständig sind. Das Kapsid umhüllt das DNA-Molekül mit der

Genexpressionskassette, also das AAV-ITRs-flankierte Vektorgenom. Die *RPE65*-Vektorvirionen werden aus mit den entsprechenden Plasmiden transfizierten Zellen gewonnen und im Anschluss gereinigt. [32,36]

3.2.2 Wirkungsmechanismus, Indikationen und Kontraindikationen

Voretigen neparvovec ist bei Erwachsenen und pädiatrischen Patienten mit einer *RPE65*-assoziierten IRD, darunter Leber'sche kongenitale Amaurose, EOSRD und Retinitis pigmentosa, indiziert. Behandelt werden Patienten und Patientinnen, die eine Sehbeeinträchtigung aufweisen, bei denen jedoch noch eine ausreichende Anzahl an lebensfähigen retinalen Zellen vorliegt. Voraussetzung für die Therapie mit Luxturna® ist eine biallelische Mutation im *RPE65*-Gen. Der Wirkstoff wird in Form einer subretinalen Injektion appliziert. [34,35]

Mutationen im *RPE65*-Gen führen zu einer verminderten oder gänzlich fehlenden RPE65-Isomerohydrolaseaktivität. Dies führt zu einer Blockade des visuellen Zyklus. Voretigen neparvovec enthält eine funktionierende Kopie des *RPE65*-Gens. Durch das Exprimieren des Genproduktes nach einer erfolgreichen Transduktion wird in den Pigmentepithelzellen der Netzhaut das Protein RPE65 produziert. Dieses kann, wie in der Abbildung 6 dargestellt, nun das all-trans-Retinol in 11-cis-Retinol umwandeln, welches anschließend im visuellen Zyklus das Chromophor-11-cis-Retinal bildet. Für die Stäbchenfotorezeptoren ist das RPE65-Protein als 11-cis-Retinolquelle essenziell. Ein Mangel an RPE65 führt zu einer schweren Sehbeeinträchtigung, insbesondere bei schlechten Lichtverhältnissen, sowie zu einer frühen Degeneration der Stäbchen-Fotorezeptorzellen. Infolge des RPE65-Proteinmangels ist schließlich die Fototransduktion stark beeinträchtigt. Bei einer intakten Fototransduktion würde es zur biologischen Umwandlung eines Lichtphotons in ein elektrisches Signal der Netzhaut kommen. [34,35,42]

Voretigen neparvovec ist für Patienten, die überempfindlich auf Voretigen neparvovec oder einen Inhaltsstoff der Formulierung reagieren, sowie für Patienten mit einer okulären und periokulären Infektion und für Patienten mit einer aktiven intraokularen Entzündung kontraindiziert. [34,35]

Die Verabreichung von Luxturna® erfolgt in Form einer einmaligen subretinalen Injektion. Der Vektor wird dabei nach einer Standardvitrektomie in den subretinalen Bereich eingebracht. Bei der Standardverdünnung laut Gebrauchsanweisung wird $1,5 \times 10^{11}$ vg (Vektorgenom) in einem Totalvolumen von 0,3ml mit einer Injektionskanüle

zwischen die äußere retinale Schicht und das retinale Pigmentepithel injiziert. Die Netzhaut löst sich temporär vom RPE ab und es kommt zur Ausbildung einer subretinalen Blase. Bei Zellen, welche im Bereich der Blase lokalisiert sind, kommt es schließlich zu einer Transduktion. Für den Therapieerfolg sind eine erhaltene Fotorezeptorzellstruktur sowie ein erhaltenes retinales Pigmentepithel vorausgesetzt. [41]

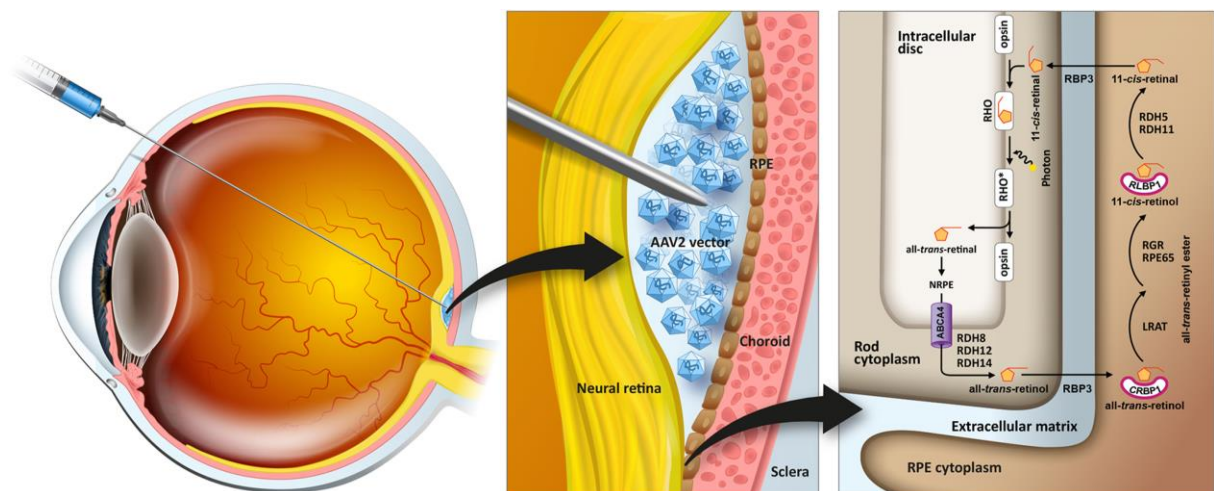


Abbildung 6: Graphische Darstellung der operativen subretinalen Applikation von Voretigen neparvovec. Einfluss des exprimierten RPE65 auf den visuellen Zyklus im retinalen Pigmentepithel.

Quelle: Stingl, 2023 [35]

3.2.3 Klinische Zulassungsstudien (Phase I-IV)

Im Jahr 2007 startete die Phase-1-Studie mit dem Medikament Voretigen Neparvovec-Rzyl-Medikament. Bei der Phase-I-Studie handelte es sich um eine Dosierungssteigungsstudie. Der rekombinante adeno-assoziierte Virusvektor mit dem RPE65-Gen (AAV2-hRPE65v2) wurde dabei einmalig einseitig subretinal injiziert. In die Studie wurden 12 Patienten im Alter zwischen 8 und 44 Jahren inkludiert, die an einer RPE65-assoziierten LCA erkrankt waren. Alle behandelten Studienteilnehmer und Studienteilnehmerinnen haben die Therapie mit Voretigen neparvovec-rzyl gut vertragen, es konnte sich somit ein akzeptables Sicherheitsprofil des Produktes zeigen. Zudem zeigten alle behandelten Patienten und Patientinnen eine Verbesserung der retinalen und visuellen Funktion bei objektiven und subjektiven Untersuchungsverfahren, wie etwa der Dunkeladaptometrie, der Pupillometrie, der Elektroretinographie sowie den Nystagmus-Tests und Gehtests. Die stärksten Verbesserungen konnten dabei unter pädiatrischen Patienten und Patientinnen beobachtet werden. Nachuntersuchungen, welche ein Jahr nach

der Gentherapie mit Voretigen neparvovec durchgeführt wurden, zeigten eine nachhaltige Verbesserung des Sehens. [37]

Die Phase I/II der Zulassung begann im Jahr 2010. Der Fokus dieser Studie lag auf der Überprüfung der langfristigen Sicherheit und Wirksamkeit von Voretigen neparvovec. Sowohl die Sicherheit als auch die Wirksamkeit des Produktes, die in der Phase I der Zulassung festgestellt werden konnten, haben sich nach 1,5 Jahren im Rahmen der Phase-I/II-Studie bestätigt. Es konnten keine unerwünschten Ereignisse beobachtet werden. Aufgefallen ist jedoch bei mehreren Patienten ein vorübergehender Anstieg der Anti-AAV-Kapsid-Antikörper. Es kam jedoch zu keiner humoralen Reaktion auf das Gentransferprodukt. In Bezug auf die Wirksamkeit von Voretigen neparvovec zeigte sich in der Phase I/II eine kontinuierliche Funktionsverbesserung der Netzhaut. Bei den Probanden wurde eine Verbesserung der Lichtempfindlichkeit beobachtet, Nystagmen wurden verringert. Die Persistenz der funktionellen Verbesserung wies darauf hin, dass durch die Gensatztherapie mit Voretigen neparvovec keine immunologischen Reaktionen ausgelöst wurden, die einen signifikanten Verlust der transduzierten Zellen verursacht hätten. Die Sicherheit des Eingriffes sowie die bleibende Verbesserung der Sehfunktion untermauerten die Anwendbarkeit der AAV-vermittelten Genaugmentationstherapie bei der Behandlung von *RPE65*-assoziierten LCA. [38]

Die Phase III begann im Jahr 2012. Während dieser Studienphase wurde Voretigen neparvovec in das kontralaterale Auge mit dem Ziel verabreicht, die Sicherheit der Behandlung mit Voretigen neparvovec bei Patienten, die an der Phase I der Studie teilgenommen haben, zu überprüfen. Auch während dieser Studienphase konnten keine schwerwiegenden unerwünschten Nebenwirkungen beobachtet werden. Beobachtete Nebenwirkungen wie Katarakte wurden als mild eingestuft. Im behandelten kontralateralen Auge konnte eine Verbesserung der Lichtempfindlichkeit beobachtet werden. Diese Verbesserung hat beim 3-Jahres-Follow-up weiterhin angehalten. Insgesamt konnte während dieser Studienphase gezeigt werden, dass Voretigen neparvovec-rzyl-Genaugmentation die Sehfunktion bei *RPE65*-assoziierten LCA-Patienten verbessert. [39]

Im Jahr 2019 begann die vierte und somit letzte klinische Studienphase. Der Abschluss der Phase-III-Studien machte Voretigene neparvovec-rzyl zur ersten von der FDA und EMA zugelassenen Gentherapie in der Ophthalmologie, die nun unter dem Handelsnamen Luxturna® vertrieben wird. [15]

3.2.4 Wirkungsprofil

Seit der Zulassung von Luxturna® konnte bei der Mehrheit der behandelten Patienten eine Verbesserung des Sehens im Dunkeln und eine bessere Orientierung bei schwachem Licht festgestellt werden. Die behandelten Patienten beschreiben damit einhergehend eine spürbare Verbesserung der Lebensqualität. Die anhaltende Wirksamkeit konnte über drei Jahre nachgewiesen werden. Bei den behandelten Patienten und Patientinnen konnte jedoch keine signifikante Verbesserung der Sehfähigkeit im Hellen festgestellt werden. Ein potenzieller Nachteil der Therapie mit Luxturna® ist der hohe Preis (800.000-1.000.000 Euro/Behandlung). Zudem kann der operative Eingriff Irritationen an der Netzhaut auslösen, welche zu Netzhautablösungen sowie Makuladegenerationen führen können. [29]

Die Kurzzeiterfahrung in Bezug auf das Short-term-Outcome der Gentherapie mit Voretigen neparvovec ist u.a. in dem publizierten Bericht von Kortüm et al. (2021) beschrieben. Der postoperative Therapieausgang nach der Behandlung einer 15-jährigen Patientin wurde durch die Ermittlung der BCVA, in der OCT sowie durch weitere retinale Bildgebungsverfahren bestimmt. Bei dem 3-Monats-Follow-Up nach der subretinalen Gentherapie konnte bei der Patientin eine Verbesserung der zentralen fovealen Morphologie in der OCT beobachtet werden. Es traten Demarkationen der Membrana limitans externa der Retina sowie Änderungen des Fotorezeptormosaiks auf. Zudem kam es zu einer postoperativen Verbesserung des foveal-vermittelten Sehens. Die Sehschärfe zeigte nur eine geringfügige Verbesserung, die zentrale Sensibilität der Retina stieg jedoch an. Im Alltag berichtete die Patientin subjektiv von einem verbesserten postoperativen Seherlebnis. [44]

Die Langzeiterfahrung mit der Genaugmentationstherapie mittels Voretigen neparvovec wird im Overview von Lorenz (2024) beschrieben [41]. Die Zulassung von Luxturna® erfolgte in den USA im Jahr 2017 und in Europa im Jahr 2018. Im Jahr 2022 wurden bereits mindestens 200 Patienten in Europa und 200 Patienten in den USA mit Voretigen neparvovec behandelt. Bei den meisten Patienten konnte nach der Behandlung keine signifikante Verbesserung der BCVA (best corrected visual acuity; bestkorrigierte Sehschärfe) erreicht werden. Wurde jedoch bei Patienten und Patientinnen eine Verbesserung der BCVA beobachtet, so konnte das größte Verbesserungsausmaß bei den pädiatrischen Patienten nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der Gesichtsfeldbestimmung, gemessen mittels Goldmann-Perimetrie, zeigten in den

unterschiedlichen klinischen Berichten eine hohe Ergebnisvarianz. Bei fortgeschrittenen IRDs-Fällen konnte keine oder nur eine geringe Verbesserung des Gesichtsfeldes beobachtet werden. Im Gegensatz dazu konnten im jungen Patientenkollektiv signifikante Verbesserungen des Gesichtsfeldes beobachtet werden, wahrscheinlich aufgrund der noch gut erhaltenen Struktur des retinalen Pigmentepithels. Bei den meisten Patienten kam es zu einer signifikanten Änderung der retinalen Sensitivität. Die Patienten waren nach der Behandlung in der Lage, Lichtreize einer niedrigeren Lichtstärke wahrzunehmen als zuvor. Jüngere Patienten zeigten auch in diesem Fall deutlichere Verbesserungen. Bei der Zwei-Farben-Schwellenperimetrie, bei welcher die retinale Sensitivität zum roten und blauen Licht an definierten retinalen Stellen ermittelt wird, konnte ebenfalls eine signifikante Verbesserung der retinalen Sensitivität beobachtet werden. [41]

In der Studie von Daruich et al. [45] untersuchte man den Therapieausgang der Gentherapie mit Voretigen neparvovec bei 12 Augen der 6 behandelten pädiatrischen Patienten und Patientinnen. Die in die Studie inkludierten Patienten waren jünger als 17 Jahre. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 7,8 Jahre. Der Therapieerfolg wurde nach 12 Monaten mittels OCT, BCVA-Bestimmung, Goldmann-Perimetrie sowie mittels Ultraweitwinkel-Fundusuntersuchung gemessen. Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen sind in Tabelle 4 ersichtlich.

Tabelle 4: Anatomische und funktionelle Untersuchungsergebnisse pädiatrischer Patienten nach der Voretigen neparvovec-Therapie

Patient number (age, yo)	Eye	BCVA (LogMAR)		CMT (µm)		ONL thickness (µm)		GVF (V4) Sum total degree		Foveal RD	Other
		M0	M12	M0	M12	M0	M12	M0	M12		
1 (6)	RE	0.5	0.3	208	230	56	58	1539	1678	yes	Parafoveal lamellar hole LE
	LE	0.3	0.2	207	225	47	68	1614	1485	no	
2 (7)	RE	0.8	0.6	204	181	46	17	1600	1699	no	
	LE	0.5	0.4	197	181	43	37	1449	1506	no	
3 (16)	RE	0.3	0.2	176	189	41	44	1430	1520	no	Ocular hypertension Two injections RE
	LE	0.2	0.1	179	195	35	48	1619	1528	no	
4 (9)	RE	1	0.7	164	122	63	22	1272	1183	yes	Two injections RE
	LE	1	0.7	162	142	53	22	1531	836	yes	
5 (3)	RE	2.7	1	169	164	55	62			yes	
	LE	2.7	1	190	165	55	55			yes	
6 (6)	RE	1	1	165	145	27	39			yes	
	LE	1	0.8	118	153	16	43			yes	

.BCVA, best-corrected visual acuity; CMT, central macular thickness; GVF, Goldmann visual field; LE, left eye; LogMAR, logarithm of the minimal angle of resolution; ONL, outer nuclear layer; RD, retinal detachment; RE, right eye; yo, years old.

Quelle: [45]

Bei den behandelten Patienten und Patientinnen blieben die Dicke der zentralen Makula sowie die Dicke der ONL unverändert. Bei der Untersuchung des Gesichtsfeldes konnten sich keine signifikanten Unterschiede zeigen. Es konnte jedoch eine signifikante

postoperative Verbesserung der BCVA bei den behandelten Patienten nachgewiesen werden. Die meisten mit der Luxturna®-Genaugmentationstherapie behandelten pädiatrischen Patienten zeigten auch bei der Nachbeobachtung 12 Monate nach der Therapie eine signifikante Verbesserung der Sehfunktion. [45]

Eine retrospektive Studie von Gerhardt et al. [42] präsentierte ebenfalls die Follow-up-Ergebnisse bei den mit Voretigen neparvovec behandelten Kindern im Kleinkind- und Vorschulalter. Die vier behandelten Kinder haben ihre Behandlung zwischen Januar 2020 und Mai 2022 als eine einmalige Injektionsgabe von Luxturna® erhalten. Bei allen vier pädiatrischen Patienten wurde zunächst eine Vitrektomie durchgeführt, an der Injektionsstelle wurde die Membrana limitans interna (ILM) entfernt und im Anschluss eine subretinale Injektion mit Voretigen neparvovec-Präparat verabreicht. Die prä- und postoperative Diagnostik bestand aus den bildgebenden Untersuchungsverfahren (OCT, Messung der Fundusautofluoreszenz und Fundus-Weitwinkel-Bildgebung), aus elektrophysiologischen Untersuchungen (ERG), aus Messungen der retinalen Lichtsensitivität sowie aus der Sehschärfemessung. Im Rahmen dieser Studie wurde ebenfalls das visusabhängige Verhalten der Kinder bei verschiedenen Beleuchtungsstärken beobachtet. Alle behandelten Kinder zeigten eine deutliche Verbesserung des visusabhängigen Verhaltens bereits kurz nach der Operation sowie eine verbesserte Sehschärfe. Bei einem Kind konnte postoperativ eine volle Sehschärfe nachgewiesen werden. Bei zwei behandelten Augen, bei welchen präoperativ keine ERG-Signale präoperativ detektierbar waren, konnte eine partielle elektrophysiologische Verbesserung erreicht werden. [42]

Auch bei Erwachsenen konnte erstmalig eine Verbesserung der ERG nach der Genaugmentationstherapie mit Voretigen neparvovec beobachtet werden. In der Studie (2018-2022) von Amato et al. [43], publiziert im Jahr 2024, konnte erstmalig seit der Luxturna®-Zulassung eine Verbesserung der Messergebnisse im ERG bei nicht pädiatrischen Patienten nachgewiesen werden. Diese Studie untersuchte den Therapieerfolg der Genaugmentationstherapie mit Voretigen neparvovec bei 17 behandelten Patienten im nicht pädiatrischen Alter. Der Fokus der Studie lag auf den Unterschieden in den ERG-Untersuchungen vor und nach der operativen subretinalen Genthherapie. Bei den meisten behandelten Patienten konnten keine Verbesserungen im ERG nachgewiesen werden. Bei drei der behandelten nicht pädiatrischen Patienten und Patientinnen, welche eine bilaterale Therapie erhielten, konnte jedoch das erste Mal seit

der Zulassung von Luxturna® eine partielle Verbesserung im Ganzfeld-ERG bei beiden Augen erreicht werden, welche im Verlauf der Studie erhalten blieb. [43]

3.2.5 Unerwünschte Nebenwirkungen

Die subretinale Genaugmentationstherapie mit Voretigen neparvovec ist mit bestimmten Komplikationen vergesellschaftet. Zu den häufigsten unerwünschten Nebenwirkungen der Therapie gehören die Erhöhung des intraokulären Drucks, Katarakte sowie okuläre Inflammationen. [48] Der operative Eingriff kann jedoch auch Irritationen an der Netzhaut bis hin zu Netzhautablösungen sowie Makuladegenerationen hervorrufen. [29]. Die seit der Luxturna®-Zulassung veröffentlichten Studien berichten ebenfalls von einer potenziell schwerwiegenden Komplikation, der retinalen Atrophie. Diese Komplikation wurde in der originalen Phase-III-Studie nicht beobachtet. [49]

In der retrospektiven Studie von Reichel et al. (2021) wurden 13 Augen von 8 mit Luxturna® behandelten Patienten und Patientinnen hinsichtlich postoperativer Komplikationen analysiert. Der Fokus lag dabei auf der postoperativen Entwicklung einer retinalen Atrophie 6 bis 24 Monate nach dem operativen Eingriff. Zur Bestimmung des Atrophie-Areales wurde eine Ultraweitwinkel-Bildgebung verwendet, zur Früherkennung der retinalen Atrophie setzte man die Fundusautofluoreszenz-Bildgebung ein. Bereits 2 Wochen nach dem operativen Eingriff haben Änderungen der Autofluoreszenz bei der Mehrheit der Patienten auf die Entwicklung einer retinalen Atrophie hingewiesen. Im weiteren Verlauf konnten atrophische Veränderungen in allen behandelten Augen festgestellt werden. Diese Veränderungen waren dabei sowohl im Bereich der subretinalen Blase als auch außerhalb dieser nachweisbar. Die Atrophie-Areale haben sich mit der Zeit vergrößert, die Atrophie-Progression hielt auch ein Jahr nach der Behandlung weiter an. Die funktionellen Therapieausgänge blieben jedoch stabil. [46]

In einer retrospektiven Multizenter-Studie von Gange et al., welche im Jahr 2021 veröffentlicht wurde, wurden 18 Augen von 10 Patienten identifiziert, bei welchen es im Durchschnitt 4,7 Monate nach der Therapie mit Luxturna® zu einer perifovealen retinalen Atrophie kam. Die funktionellen Therapieausgänge blieben bei den meisten behandelten Patienten jedoch stabil oder verbesserten sich. [47]

Auch der publizierte Bericht von Grewal et al. (2022) berichtete von einem 20-jährigen Patienten, bei welchem 6 Monate nach der Therapie mit Voretigen neparvovec eine retinale Atrophie im Bereich des retinalen Pigmentepithels festgestellt wurde. Auch

bei diesem Patienten konnte keine Verschlechterung der Sehschärfe bzw. des Gesichtsfeldes beobachtet werden. [48]

Bommakanti et al. beschäftigten sich in ihrer retrospektiven Multizenter-Studie “Classification and growth rate of chorioretinal atrophy after voretigene neparvovec-rzyl for RPE65-mediated retinal degeneration” (2023) [49] mit den verschiedenen Dimensionen der retinalen Atrophien nach der subretinalen Genterapie mit Voretigen neparvovec und haben die postoperativ aufgetretenen Atrophien anhand ihrer Ausprägung klassifiziert (siehe Abbildung 7).

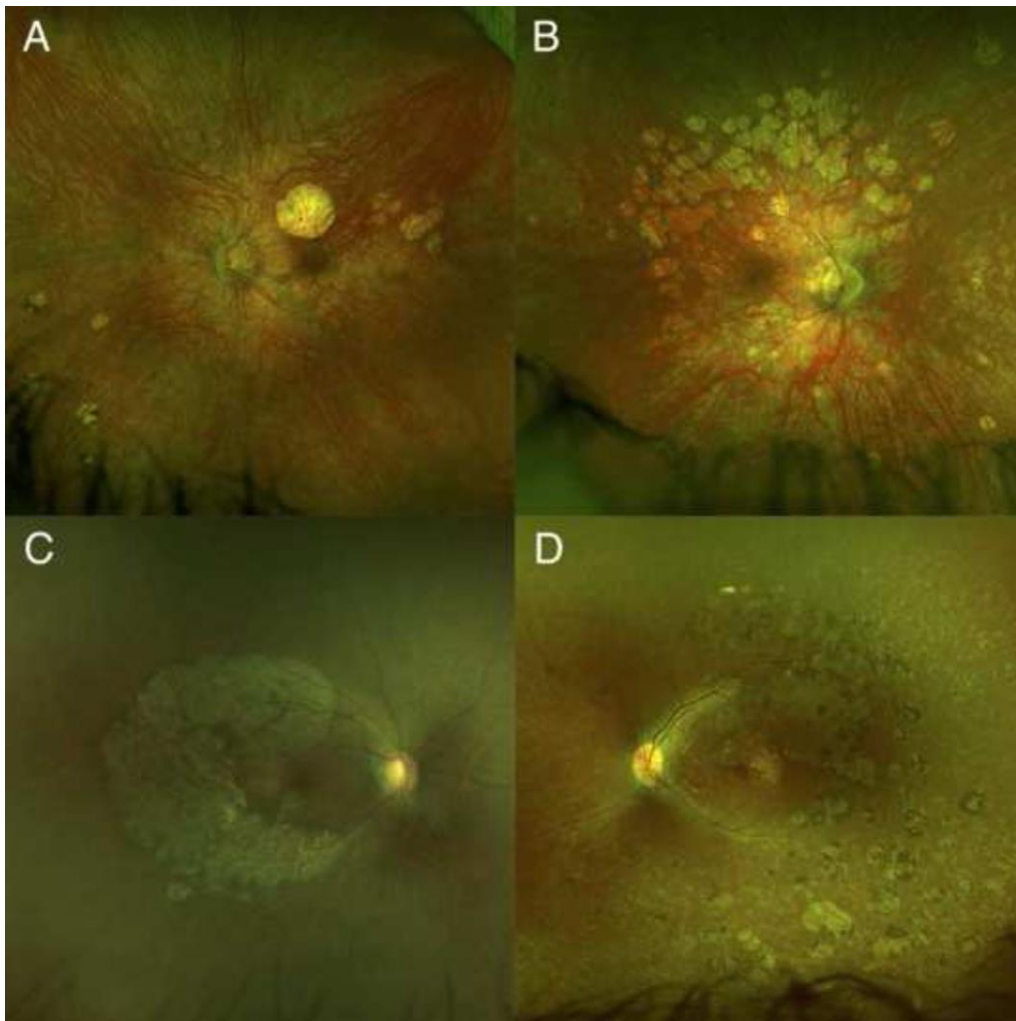


Abbildung 7: Atrophie-Ausprägungen nach Therapie mit Voretigen neparvovec

A: Atrophie an der Injektionsstelle, B: nummuläre Atrophie, C: perifoveale Atrophie, D: konfluente Atrophie

Quelle: Bommakanti et al., 2023, [49]

Die Therapieausgänge aller Patienten aus sämtlichen in diese Studie inkludierten Kliniken wurden durchgesehen und evaluiert. In die Studie wurden 14 Patienten mit 27 behandelten Augen inkludiert, die nach einer bilateralen Therapie mit Voretigen neparvovec eine chorioretinale Atrophie entwickelt haben. Insgesamt wurden in den in die Studie

inkludierten Zentren 187 Augen behandelt. Die resultierende Atrophie-Prävalenz betrug somit 14,4%. Im Rahmen dieser Studie konnten verschiedene Atrophiemuster beobachtet werden. Zu diesen gehören Atrophien an der Injektionsstelle, aufgetreten bei 14 behandelten Augen, entsprechend 51,9% aller beobachteten Atrophien; nummuläre Atrophien, welche vor allem peripheriebetont waren, aufgetreten bei 15 behandelten Augen und entsprechend 55,6% aller beobachteten Atrophien; perifoveale Atrophien, aufgetreten bei 12 behandelten Augen, entsprechend 44,4% aller beobachteten Atrophien; und Atrophien mit konfluenten Mustern der nummulären und perifovealen Atrophie, welche bei 5 behandelten Augen und somit 18,5% aller beobachteten Atrophien aufgetreten sind. Bei allen 27 Augen wurde eine Makulaatrophie beobachtet, bei 20 Augen konnten zusätzliche periphere Atrophien beobachtet werden. 13 der 14 behandelten Patienten und Patientinnen entwickelten eine bilaterale Atrophie. Es konnte observiert werden, dass die perifoveale Atrophie die rascheste Progression zeigte, während die Atrophie im Bereich der Injektionsstelle am langsamsten voranschritt. Die nummuläre Atrophie zeigte eine intermediäre Progression. Bei der konfluenten Atrophie zeigte sich, wie bei der perifovealen Atrophie, eine rasche Progressionstendenz. [49]

Obwohl die Entwicklung einer chorioretinalen Atrophie als eine Komplikation der subretinalen Gentherapie mit potenziell schwerwiegenden Folgen angesehen wurde, konnte ein positiver Zusammenhang zwischen einer Atrophie-Entwicklung nach der Voretigen neparvovec-Therapie und einem positiven Therapieausgang beobachtet werden [52]. In der Studie von Stingl et al. (2023) [53] wurden retrospektiv ophthalmologische Daten der 38 mit Voretigen neparvovec behandelten Patienten und Patientinnen (insgesamt 71 behandelte Augen) analysiert. Das Patientenalter lag zwischen 2 und 44 Jahren. Die Patienten und Patientinnen wurden in zwei Gruppen unterteilt: jene, die eine postoperative chorioretinale Atrophie entwickelten, und jene ohne Atrophiezeichen. 20 Augen von 12 behandelten Patienten entwickelten eine chorioretinale Atrophie (entspricht 28% aller behandelter Augen). Es konnte kein signifikanter Einfluss des Geschlechtes auf die Entwicklung der Atrophie nachgewiesen werden. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass sowohl die ältesten als auch die jüngsten der behandelten Patienten keine Atrophie entwickelt haben. Überwiegend von Atrophie betroffen waren Patienten im Schulalter bzw. im jungen Erwachsenenalter. In dieser Publikation konnte gezeigt werden, dass bei Patienten, welche eine Atrophie entwickelten, bessere postoperative BCVA-Werte gemessen werden konnten ($P=0.006$). Auch die FST-Ergebnisse (FST: Full-field Stimulus test) bei der 1-Monats-Nachuntersuchung waren signifikant höher bei Patienten mit einer

chorioretinalen Atrophie im Vergleich zu Patienten ohne Atrophiezeichen ($P=0.0005$). Dieser Unterschied blieb auch ein Jahr postoperativ statistisch signifikant. Der Grad der FST-Verbesserung scheint stark mit der Entwicklung der Atrophie zu korrelieren. [53]

In den Ergebnissen einer weiteren Publikation von Stingl et al. (2024) [52] konnte gezeigt werden, dass viele Patienten, die eine Therapie mit Voretigen neparvovec erhalten haben, eine Atrophie im Bereich der stärksten postoperativen Stäbchengenesung entwickeln. Die Stäbchen mit dem größten Empfindlichkeitsgewinn sind allerdings nicht Teile der wachsenden Atrophie. Die Tatsache, dass die Stäbchen mit der stärksten Empfindlichkeit erhalten bleiben, scheint das ausgezeichnete Long-Term-Outcome der Stäbchenrettung nach der Voretigen neparvovec-Therapie zu erklären. [52]

Obwohl die Therapie mit Voretigen neparvovec bei der Mehrheit der Patienten zu einer deutlichen Verbesserung der Lichtsensitivität und der Orientierung bei schwachem Licht und bei manchen Patienten auch zur Verbesserung des Gesichtsfeldes führt, wurden auch Fälle publiziert, bei welchen es zu unerwünschten Ereignissen, wie etwa zur Verschlechterung der BCVA oder zu einer intraokulären Inflammation, kommt. In einem publizierten Bericht von Neves et al. aus dem Jahr 2023 wurde etwa von einem 45-jährigen männlichen Patienten berichtet, der eine Therapie mit Voretigen neparvovec erhielt. Bei diesem Patienten kam es postoperativ zu einer strukturellen und funktionellen Verschlechterung. Der behandelte Patient berichtete von subjektiver Abnahme der Sehschärfe sowie einer verschlechterten Adaptation im Dunkeln. Die Symptome traten direkt nach der Gentherapiebehandlung auf und persistierten auch noch beim 6-Monats-Follow-up. Bei der OCT-Untersuchung konnte bei beiden Augen eine Abnahme der zentralen retinalen Dicke sowie der Dicke der Ellipsoid-Zone beobachtet werden. [51]

Wie bereits erwähnt gehören intraokuläre Inflammationen zu den mit Voretigen neparvovec-Behandlung assoziierten postoperativen Komplikationen. Kessel et al. berichteten im November 2022 in ihrer retrospektiven Studie über die Prävalenz der intraokulären Inflammationen aller zu diesem Zeitpunkt in Schweden behandelten Patienten und Patientinnen [50]. 12 Patienten haben eine Therapie mit Voretigen neparvovec erhalten, 11 davon bilateral. In 9 der 23 behandelten Augen kam es zu einer Vitritis. Bei 4 der behandelten Augen zeigten sich neben der Vitritis äußere retinale Infiltrate. Nach einer Therapie mit Immunsuppressiva ließ die Inflammation nach. Die Inflammation hatte bei den Patienten keinen Einfluss auf den visuellen Therapieausgang. [50]

3.3 AAV2/5-OPTIRPE65 zur Genterapie einer RPE65-assozierten LCA

Im Jahr 2007 wurde von der University College London (UCL) und dem Moorfields Eye Hospital NHS Foundation Trust eine Phase-I/II-Studie gestartet. Das Ziel dieser Studie war es, den Wirkstoff rAAV2/2.hRPE65p.hRPE65 (tgAAG76) zu testen. Während dieser Studie erhielten 3 junge nichtpädiatrische LCA-Patienten eine subretinale Injektion mit diesem Wirkstoff. Nach der Behandlung traten bei den Probanden keine schwerwiegenden Nebenwirkungen auf. Die Verabreichung von tgAAG76 führte jedoch zu keiner signifikanten Veränderung der Netzhautfunktion. Deutlich verbesserten sich jedoch bei den behandelten Patienten die Ergebnisse in der Perimetrie sowie in der dunkeladaptierten Perimetrie. Bei einem der Teilnehmer konnte eine erhöhte Lichtempfindlichkeit observiert werden. Insgesamt traten jedoch nur sehr geringfügige und vorübergehende Verbesserungen der Netzhautempfindlichkeit auf. Es kam zu keinen maßgebenden und dauerhaften therapeutischen Wirkungen. Um die Effizienz des Produktes zu steigern, wurde im Jahr 2016 der rAAV2/2-Vektor modifiziert. Bei dem modifizierten Vektor AAV2/5-OPTIRPE65 wurden die Promotorsequenz sowie die RPE65-Codonsequenz überarbeitet. Hinzugefügt wurden ein exogenes Intron und eine optimierte Kozak-Sequenz. Der modifizierte AAV2/5-Vektor wurde im Jahr 2016 erfolgreich in die Phase I/II überführt (Trial: NCT02946879). Die Publikation der Studienergebnisse wird erwartet. [15]

3.4 ATSN-101 zur Genterapie einer GUCY2D-assozierten LCA

Aktuell läuft eine Phase-I/II-Genterapiestudie (NCT03920007) zur subretinalen Verabreichung von SAR439483, mittlerweile bekannt als ATSN-101. Bei der ATSN-101-Therapie handelt es sich um eine AAV5-vermittelte Genaugmentationstherapie. Die Phase-I/II-Studie wird von Atsena Therapeutics Inc. mit dem primären Ziel initiiert, die Sicherheit und Verträglichkeit der aufsteigenden Dosen des subretinal zu verabreichenden ATSN-101-Produktes bei 15 Patienten und Patientinnen mit GUCY2D-assozierten LCA zu bewerten, sowie mit dem sekundären Ziel, die Wirksamkeit aufsteigender Produktdosen zu bewerten. [7,20,54]

In der Publikation von Yang et al. (September 2024) wurden die bisherigen Studienergebnisse zu ATSN-101 präsentiert. Alle 15 Patienten haben im Verlauf der Phase-I/II-Studie eine unilaterale subretinale Injektion mit ATSN-101 erhalten. In der

Studie kam es zu keinen schwerwiegenden behandlungsbedingten unerwünschten Ereignissen. Auftretene okuläre Inflammationen waren mild und unter Steroidtherapie reversibel. Bei Patienten, die höhere Produktdosen erhalten hatten, kam es zu signifikanten nachhaltigen klinischen Verbesserungen der Netzhautempfindlichkeit. Diese Verbesserungen wurden 28 Tage nach der Therapie beobachtet und hielten über 12 Monate an. Es konnten auch leichte Verbesserungen der BCVA beobachtet werden. Im MLTM (Multi-Luminanz-Mobilitätstest) erreichten drei von sechs Patienten, welche mit einer hohen Dosis behandelt wurden, am behandelten Auge eine maximale Punktzahl. [55]

3.5 Forschung zur Gentherapieentwicklung für die *CRB1*-assoziierte LCA

Wie bereits im Einführungsteil dieser Arbeit erwähnt, hat sich die Entwicklung der Gentherapie für die *CRB1*-assoziierte LCA aufgrund der umfangreichen Größe des *CRB1* sowie aufgrund der begrenzten Verpackungskapazität des AAV-Vektors (4,5kb) als besonders herausfordernd erwiesen. Der vollständige ubiquitäre Promotor des Cytomegalovirus und die *CRB1*-cDNA überschreiten die AAV-Verpackungskapazität. Durch neue gentechnische Ansätze bei der AAV-Vektorenentwicklung mit kleinen Cytomegalovirus-Promotorsequenzen sowie durch Codon-optimierte *CRB1*-cDNA könnte die *CRB1*-Expression in Müller-Gliazellen bei Mäusen ermöglicht werden. [7,56]

3.6 *rAAV8.hRKp.AIPL1* zur Gentherapie einer *AIPL1*-assoziierten LCA

Bei der *AIPL1*-assoziierten LCA ist bei den meisten Patienten nach dem vierten Lebensjahr keine äußere Retinastruktur mehr vorhanden. Da für die Gentherapie mit AAV-Vektoren eine erhaltene Struktur des retinalen Pigmentepithels sowie eine erhaltene Fotorezeptorzellstruktur für den Therapieerfolg vorausgesetzt sind, verkürzt sich bei der *AIPL1*-assoziierten LCA das mögliche therapeutische Fenster maßgebend. [7,41]

Im Februar 2025 wurden die Studienergebnisse der Compassionate-Use-Gentherapie-Studie von Moorfields Eye Hospital und dem UCL Institute of Ophthalmology veröffentlicht. Der Fokus dieser Studie lag darauf, zu evaluieren, ob eine frühe Intervention mit der Gensupplementtherapie bei Kindern mit der *AIPL1*-assoziierten LCA sicher ist und ob diese zu einer Verbesserung der visuellen Funktion führt. [57]

In die Studie wurden 4 Kinder im Alter zwischen 1,0-2,8 Jahren inkludiert, die an einer biallelischen *AIPL1*-assoziierten LCA leiden. Als Gentherapieprodukt wurde der

rekombinante AAV-Vektor rAAV8.hRKp.AIPL1 verwendet. Dieser umfasst die kodierende humane *AIPL1*-Sequenz und den humanen Rhodopsin-Kinase-Promotor. Das Produkt wurde bei den pädiatrischen Studienteilnehmern unilateral subretinal injiziert. Als Zusatzmedikation erhielten die behandelten Kinder Prednisolon, um eine reaktive Inflammation vorzubeugen. [57]

Um den Therapieerfolg zu messen, wurden ophthalmologische Untersuchungen durchgeführt. Angewendet wurden dabei eine Sehschärfemessung, Messungen des funktionellen Sehens anhand des visuell bezogenen kindlichen Verhaltens sowie die Ermittlung der VEPs. Die retinale Struktur wurde durch die OCT sowie durch eine Weitwinkelbildgebung observiert. [57]

Durchschnittlich 3,5 Jahre nach der Gentherapie zeigte sich eine signifikante Verbesserung der Sehschärfe im behandelten Auge. Die Sehschärfe im nicht behandelten Auge war zu diesem Follow-up-Zeitpunkt nicht mehr messbar. Bei zwei Kindern, die entwicklungsgemäß an den entsprechenden Tests teilnehmen konnten, bestätigten objektive Sehschärfe-Tests die Verbesserung der Sehschärfe. Die Messung der VEPs zeigte bei beiden Kindern eine erhöhte Aktivität im visuellen Kortex. In der OCT zeigte sich bei 3 Kindern eine deutlichere Erhaltung der äußeren retinalen Netzhautstruktur im behandelten Auge im Vergleich zum unbehandelten Auge (siehe Abbildung 8), sowie ein deutlicherer Erhalt der retinalen Dicke bei allen vier Kindern. [57]

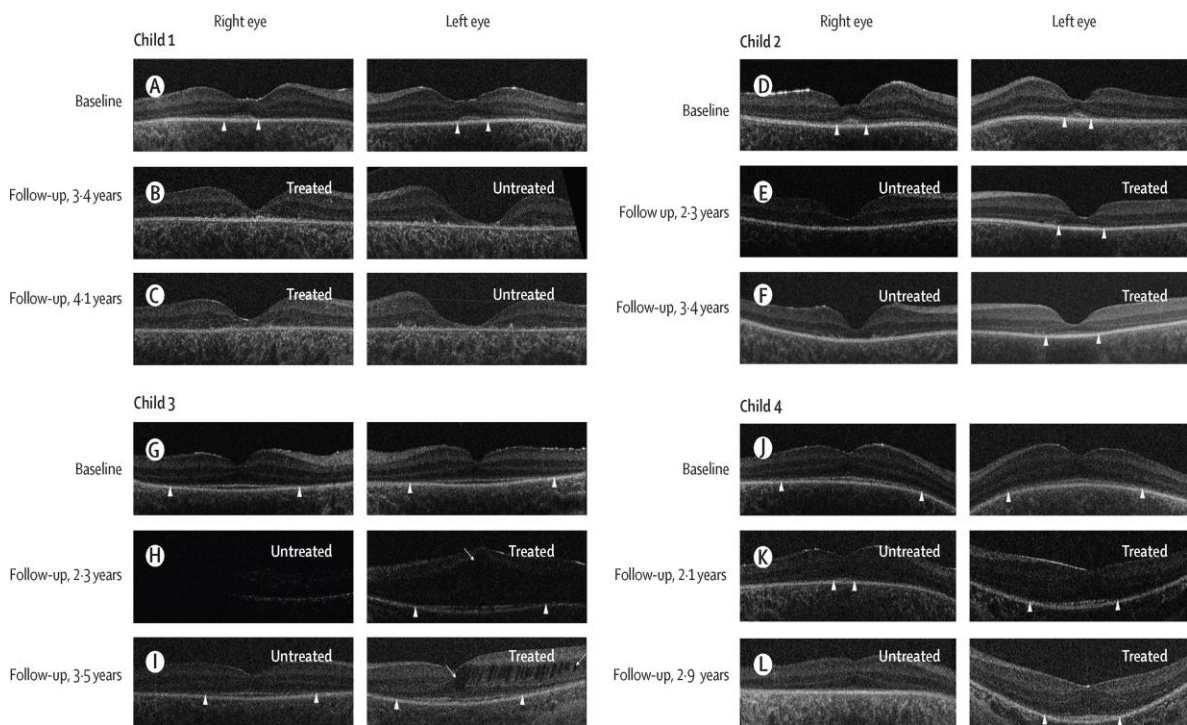


Abbildung 8: OCT-Ergebnisse der behandelten *AIPL1*-LCA-Patienten

Quelle: Michaelides et al. [57]

Bei einem Kind entwickelte sich im behandelten Auge ein zystisches Makulaödem. Im Verlauf der Studie kam es jedoch zu keinen weiteren Sicherheitsbedenken. Die Studienergebnisse lassen daher vermuten, dass Kleinkinder mit einer AIPL1-assoziierten retinalen Dystrophie einen deutlichen Benefit durch die subretinale Therapie mit rAAV8.hRKp.AIPL1 haben könnten. [57]

3.7 CRISPR/Cas9-Geneditierung bei der LCA

Bei der Geneditierung kommt es zur Editierung von spezifischen Mutationen in einem spezifischen Gen mit dem Ziel, eine defekte Gensequenz zu korrigieren. Die gezielte Genomeditierung auf CRISPR-Basis (“clustered regularly interspaced short palindromic repeats”, gruppierte kurze palindromische Wiederholungen mit regelmäßigen Abständen) wird als revolutionärer Fortschritt in der Biotechnologie und Gentechnik angesehen. CRISPR/Cas9 wird als therapeutisches Werkzeug bei der Behandlung genetischer Erkrankungen angewandt, häufig auch in der ophthalmologischen Forschung. In neusten Studien wird CRISPR/Cas9 eingesetzt, um Mutationen zu korrigieren, die mit Netzhautdystrophien in Zusammenhang stehen. Die aktuellen ophthalmologischen Therapieansätze mit Verwendung von CRISPR/Cas9 beziehen sich auf die Therapie der *CEP290*- bzw. *RPGR*-assoziierten LCA und der Retinitis pigmentosa. Die bisherigen Studienergebnisse weisen auf ein hohes Therapiepotenzial mit potenziell langfristigen Therapieerfolgen hin. Ein großer allgemeiner Vorteil dieses Therapieansatzes ist das präzise Editieren defekter Gene. Als Herausforderungen der CRISPR-Geneditierungstherapie gelten die mit der Therapie in potenziellem Zusammenhang stehenden Nebenwirkungen, wie etwa eine unbeabsichtigte genetische Veränderung und ein potenziell erhöhtes Risiko für eine Zellentartung, sowie ethische Bedenken aufgrund dauerhafter Veränderungen des menschlichen Genoms. [58,59]

CRISPR/Cas9 wurde bereits im Jahr 1987 entdeckt. Im Jahr 2013 wurde erstmalig eine CRISPR/Cas9-Geneditierung des Säugetiergenoms beschrieben. Folglich wurde seitdem intensiv an der Anwendung von CRISPR/Cas9 zur Behandlung genetischer Erkrankungen, wie etwa der Netzhautdystrophien, geforscht. [59]

3.7.1 Struktur und Wirkungsmechanismus

Im Vergleich zu früheren Geneditierungsmethoden wie ZFNs („zinc finger nucleases“, Zinkfingernukleasen) oder TALEN („transcription-activating effector nucleases“, transkriptionsaktivierende Effektornukleasen) sind die CRISPR/Cas9-

Technologien deutlich einfacher und leistungsfähiger. Bei dem CRISPR/Cas9-System handelt es sich um ein Dreikomponentensystem, bestehend aus einer Endonuklease (Cas9: CRISPR-assoziiertes Protein 9), einem sequenzspezifischen Zielelement (crRNA) und einer weiteren RNA, der tracrRNA, die Cas9 mit der crRNA verbindet. Die tracrRNA und crRNA können zu einem Molekül kombiniert werden, der sogenannten Single-guide-RNA (sgRNA) (siehe Abbildung 9). Als Leitstruktur funktioniert in diesem System also die Ribonukleinsäure. [60]

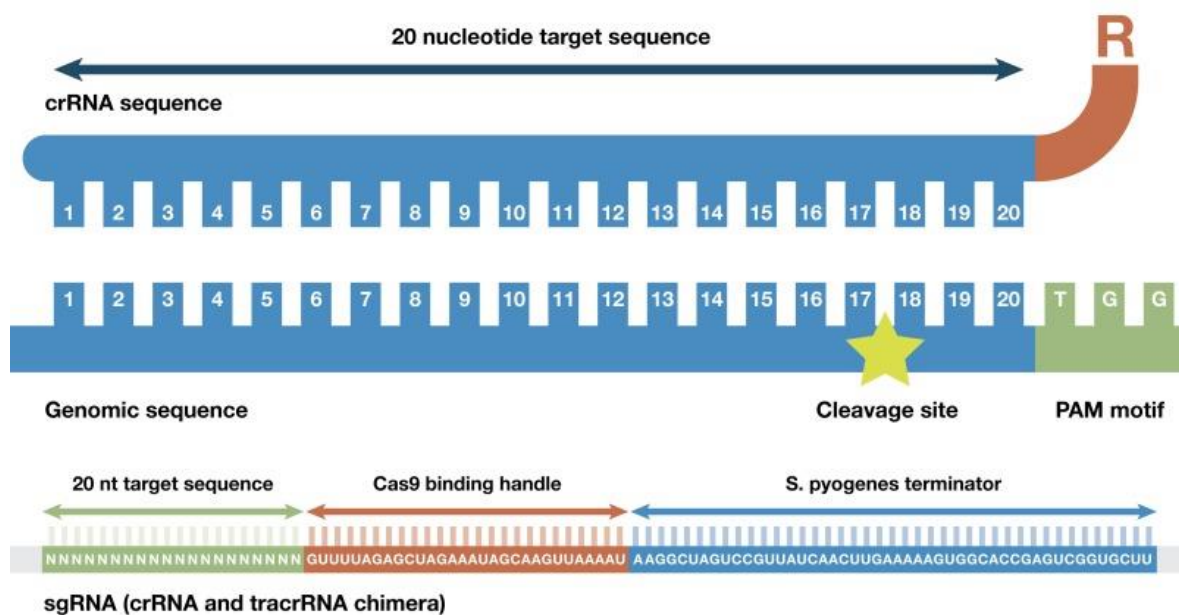


Abbildung 9: Struktur der sgRNA

Die srRNA besteht aus einer crRNA- und einer tracrRNA-Sequenz. Die crRNA enthält eine Targetsequenz mit der gleichen Nucleotidlänge wie die Zielsequenz im DNA-Genom(20nt). Voraussetzung für die Bindung der sgRNA an die Zielsequenz ist das Vorhandensein eines PAM-Motivs am 3'-Ende der genomischen Erkennungssequenz. Als „R“ wird der Restteil der sgRNA bezeichnet, der aus einem Cas9-Bindungsgriff und der S. pyogenes-Terminatorsequenz besteht. Die Spaltung erfolgt am 3'-Ende vor dem PAM-Motiv. [60]

Der Wirkungsmechanismus beruht auf der Expression von mindestens 2 Komponenten, einem Effektorenzym und der targetspezifischen RNA-Sequenz. Diese wird auch single-guide-RNA (sgRNA) genannt und leitet die Cas9-Endonuklease zu einem spezifischen Bereich der genomischen DNA. Die Guide-RNA wurde entsprechend einem beliebigen Gen entworfen. Als Effektorenzym wird in der genetischen Forschung am häufigsten das Cas9 aus dem Typ-II-CRISPR/Cas-System von Streptokokkus pyogenes verwendet, da es nur ein einzelnes Protein mit Endonuklease-Aktivität enthält. Damit das Cas9-Protein im CRISPR-System verwendet werden kann, muss Cas9 exprimiert und in

den Zellkern transloziert werden. Um das zu gewährleisten, wurden in der Forschung mehrere kodonoptimierte Versionen mit nukleären Translokationssequenzen (NLS) erstellt. Im Zellkern angekommen erkennt die crRNA die Zielsequenz der DNA und hybridisiert mit dieser. Die Länge der Targetsequenz sowie der Zielsequenz innerhalb des Zielgenoms beträgt 20 Nukleotide (siehe Abbildung 9). Dieses Targeting erfolgt spezifisch am 3'-Ende der gewünschten Stelle, die durch CRISPR/Cas9 geschnitten werden soll. Diese Sequenzen, welche für isolierte Cas9-Proteine spezifisch und ausschlaggebend sind, werden Protospacer Adjacent Motifs (PAMs) genannt. Wenn die crDNA-Sequenz mit der DNA-Zielsequenz übereinstimmt, spalten die katalytischen Domänen der Cas9-Endonuklease beide Stränge der Ziel-DNA und es kommt zu einem Doppelstrangbruch. Wird Spender-DNA bereitgestellt, so kann eine transgene DNA erstellt werden (siehe Abbildung 10). [59,60,61]

Kommt es zu einem Doppelstrangbruch, so werden diese in eukaryotischen Organismen entweder durch fehleranfällige NHEJ-DNA-Reparaturmechanismen (NHEJ: „non-homologous end-joining“, nicht-homologe Endverknüpfung) repariert oder durch relativ fehlerfreie HDR-Reparaturmechanismen (HDR: „homology directed repair“, homologiegerichtete Reparatur) (siehe Abbildung 10) Unter Abwesenheit der Spender-DNA wird der Doppelstrangbruch von der Wirtszelle durch das NHEJ-DNA-Reparatursystem repariert. Dies resultiert in einer zufälligen Insertion oder Deletion der entsprechenden DNA-Stelle, wodurch der offene Leserahmen eines Gens möglicherweise unterbrochen wird. Die begrenzte Kontrolle über NHEJ kann die Effizienz der Therapie verringern. Zudem ist die Anwendung dieses Systems auf Mutationen beschränkt, die durch Inversion oder Deletion korrigiert werden können. Im Fall einer Haploinsuffizienz, bei der ein diploides Gen im haploiden Zustand den normalen Phänotyp nicht bewirken kann, kann NHEJ zwar das mutierte Allel inaktivieren, weiter erforderlich wäre jedoch die Ergänzung des Wildtyps. HDR-Reparaturmechanismen können im Gegensatz genutzt werden, um spezifische DNA-Vorlagen für die präzise Wiederherstellung der genomischen DNA-Sequenz einzufügen. [61,63]

Somit haben die HDR-Mechanismen das Potenzial, unter Verwendung einer Wildtyp-DNA-Vorlage eine Mutation in IRDs zu korrigieren. In der präklinischen Forschung hat sich jedoch gezeigt, dass die HDR-Mechanismen in den sich nicht teilenden Zellen der Netzhaut unwirksam sind. Daher ist der NHEJ-Reparaturmechanismus derzeit der am häufigsten angewandte Ansatz bei der Entwicklung der Geneditierungstherapie für die Behandlung der IRDs, vor allem bei jenen, die autosomal dominant vererbt wurden und

keine Haploinsuffizienz aufweisen. Das mutierte Allel kann dabei zerstört werden, während das Wildtyp-Allel erhalten bleibt. [63]

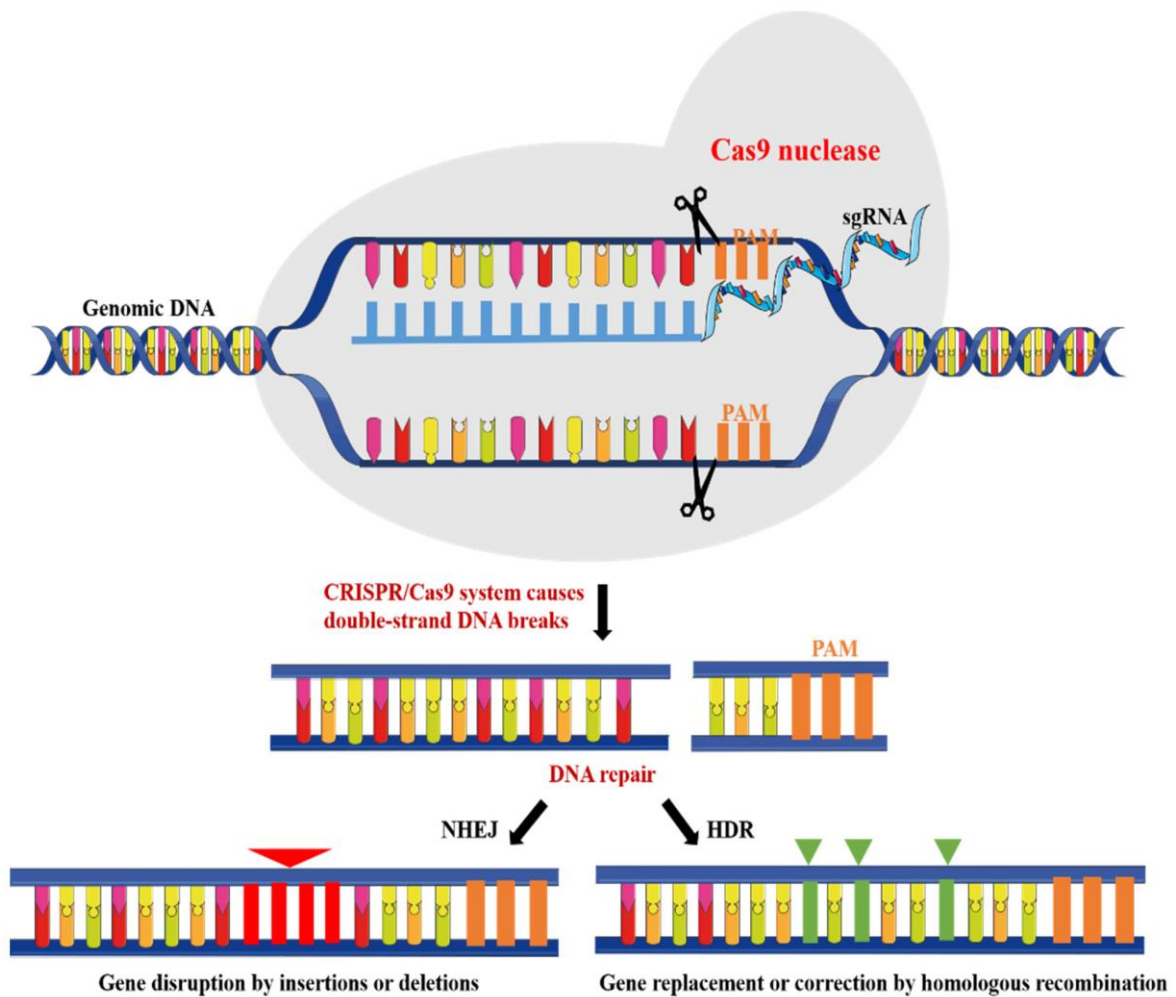


Abbildung 10: Technologiemechanismus der CRISPR/Cas9-Geneditorierung

Quelle: Dengyun Nie et al. [64]

Durch die Bereitstellung mehrerer Leit-RNAs an verschiedenen Stellen kann eine Multiplex-Editierung ermöglicht werden, bei welcher schädliche Mutationen aus dem Genom entfernt werden können und der offene Leserahmen trotzdem erhalten bleibt. [63] In der präklinischen Studie von Maeder et al. aus dem Jahr 2019 [22] konnte gezeigt werden, dass ein sgRNAs-Paar gekoppelt mit *Streptococcus pyogenes*-Cas9 (SpCas9, 4098bp) ein Segment von Intron 26 hocheffizient entfernen oder invertieren kann, wodurch das normale Spleißen zwischen Exon 26 und Exon 27 *in vivo* wiederhergestellt werden konnte. Die Mutation im Intron 26 stellt die häufigste intronische CEP290-Mutation bei LCA-Patienten dar. [22,63]

Eine Einschränkung bei der Verwendung von Cas9 als Endonuklease ist seine Abhängigkeit von der PAM-Sequenz, um an die Ziel-DNA zu binden. In vielen verschiedenen Bereichen wird die SpCas9 eingesetzt, da diese eine einfache 5'-NGG-3' - PAM-Sequenzanforderung aufweist, wobei N ein beliebiges Nukleotid ist. Es wird jedoch intensiv daran geforscht, weitere Cas9-ähnliche Effektorproteine zu identifizieren. Die natürlich vorkommenden Cas9-Varianten sind große Proteine, was in Einschränkungen bei der Verpackungskapazität und beim Transport in die Zielzelle resultiert. Ein großes therapeutisches Potenzial zeigt die Entdeckung der nur 3246bp langen Cas9 von *Staphylokokkus aureus*, die zusätzlich PAM-Anforderungen zeigt, wodurch das Repertoire der genomischen Zielmoleküle deutlich erweitert werden kann. [63]

Basierend auf diesen präklinischen Erkenntnissen, die die Grundlage für die Entwicklung klinischer Genomeditierungstherapeutika bildeten, konnten Strategien für klinische Studien entworfen werden. So leitete Editas Medicine, Inc. (Cambridge, MA) eine klinische Phase-1/2-Studie für das Therapeutikum Edit-101 zur Behandlung von LCA ein. Dies stellt die erste klinische Anwendung der CRISPR-vermittelten Genomeditierung in der Netzhaut dar.

3.7.2 LCA-Therapie mit Geneditierungskomplex Edit-101

Die derzeit laufende Studie (NCT03872479) untersucht aktuell den Therapieerfolg des Editierungskomplexes Edit-101 bei Patienten mit einer IVS26-Mutation im *CEP290*-Gen. Bei Edit-101 handelt es sich um ein CRISPR/Cas9-Editierungstool. In der Entwicklung der Edit-101-Therapie wurden Cas9-Leit-RNAs vom *Staphylococcus aureus* identifiziert, die eine hohe Spezifität zur humanen *CEP290*-Zielsequenz aufweisen. Die subretinale Verabreichung von EDIT-101 an humanisierte *CEP290*-Mäuse zeigte eine schnelle und anhaltende *CEP290*-Geneditierung. Daher begann im September 2019 eine klinische Studie zur Edit-101-Therapie am Menschen mit der Phase I/II. [62,63]

Das Hauptaugenmerk der Studie liegt auf der Überprüfung der Sicherheit, Verträglichkeit und Wirksamkeit einer einzelnen Dosis von Edit-101. In die Studie inkludiert wurden sowohl pädiatrische als auch nichtpädiatrische Patienten und Patientinnen mit einer *CEP290*-assoziierten LCA. Die Studienteilnehmer wurden in 3 Gruppen unterteilt, wobei jede Gruppe eine unterschiedliche Edit-101-Dosierung erhalten hat. Der Geneditierungskomplex Edit-101 wurde den Studienteilnehmern unilateral subretinal verabreicht, mit dem Ziel der Wiederherstellung einer normalen *CEP290*-Expression. [22,62]

Im Mai 2024 wurde eine Publikation von Pierce et al. [21] über die bisherigen Studienerfolge veröffentlicht. Bei der Studie wurde die Wirksamkeit und Sicherheit von Edit-101-Editierung bei LCA-Patienten mit einer IVS26-Variante im *CEP290*-Gen überprüft. Edit-101 wurde bei 12 Erwachsenen im Alter zwischen 17 und 63 Jahren in einer niedrigen (2 Teilnehmer), mittleren (5 Teilnehmer) und hohen Dosis (5 Teilnehmer) verabreicht sowie bei 2 Kindern in einer mittleren Dosis. Es konnten keine unerwünschten Ereignisse, die in Zusammenhang mit der Edit-101-Therapie stünden, festgestellt werden, sowie keine dosislimitierten toxischen Wirkungen. Bei sechs Teilnehmern zeigte sich gegenüber dem Ausgangswert eine signifikante Verbesserung der Zapfenfunktion, die mittels FST ermittelt wurde. Bei neun der behandelten Studienteilnehmer und Studienteilnehmerinnen konnte eine bedeutsame Veränderung der BCVA gegenüber dem Ausgangswert beobachtet werden. Bei sechs der behandelten Patienten und Patientinnen konnte im Vergleich zum Ausgangswert eine deutliche Verbesserung der VR-QOL (vision-related quality of life, visusabhängige Lebensqualität) festgestellt werden. Das Sicherheitsprofil von Edit-101 sowie die beobachtete signifikante Verbesserung der Fotorezeptorfunktion nach Edit-101-Behandlung unterstützen laut Studienautoren eine weitere Erforschung der Geneditierung mit CRISPR-Cas9-Technologie zur Behandlung vererbter Netzhautdystrophien aufgrund einer IVS26-Variante im *CEP290*-Gen. [21]

3.8 RNA-basierte AON-Therapie mit QR-110 (Sepofarsen)

Einen weiteren Therapieansatz bei einer *CPE290*-assoziierten LCA/EOSRD bietet das QR-110 (Sepofarsen), welches sich aktuell in der Phase II/III-Studie (NCT03913143) befindet. QR-110 basiert auf dem Behandlungsansatz einer Antisense-Oligonukleotiden-vermittelte Therapie (AON-Therapie). Das Therapieziel ist dabei eine Verhinderung der Einfügung des mutierten *CEP290*-Pseudoexons in die mRNA. Beim verwendeten Produkt handelt es sich um QR110 (Sepofarsen). [7,23,65]

Die *CEP290*-assoziierte LCA ist mit Spleißdefekten im Zilientransportprotein *CEP290* verbunden. Die *CEP290*-Prä-mRNA bei den betroffenen LCA-Patienten enthält eine hypomorphe kryptische Spleißstelle im Intron 26. Dies resultiert darin, dass von den Zellen zwei *CEP290*-Transkripte produziert werden: die Wildtyp-Transkripte sowie die alternativ gespleißten Transkripte, die ein zusätzliches Exon von 128 Nukleotiden enthalten, welches ein vorzeitiges Stopcodon einführt. Diese hypomorphe Variante führt zu niedrigen Konzentrationen des funktionstüchtigen *CEP290*, welches eine Schlüsselrolle für die Zilienfunktion der Fotorezeptoren spielt. [15]

Beim QR-110 handelt es sich um ein einzelsträngiges 2'-O-methyliertes RNA-Antisense-Oligonukleotid, welches in der Lage ist, Spleißdefekte, die durch eine *CEP290* c.2991 + 1655A > G -Mutation entstehen, zu korrigieren. Das QR-110 führt zu einem normalen Spleißen von *CEP290* und somit zu einer normalen *CEP290*-mRNA. Folglich das *CEP290* Protein wieder normal hergestellt (siehe Abbildung 11). Dies führt zu einer erhöhten Ziliogenese. Das QR-110 wird intravitreal appliziert und kann so die Netzhaut gut erreichen. Das QR-110 trat im Jahr 2019 in die Phase II-III ein. In den bisherigen Studienergebnissen traten keine schwerwiegenden Nebenwirkungen auf. Die Sehschärfe sowie die wahrgenommene Helligkeit im behandelten Auge verbesserten sich. [15]

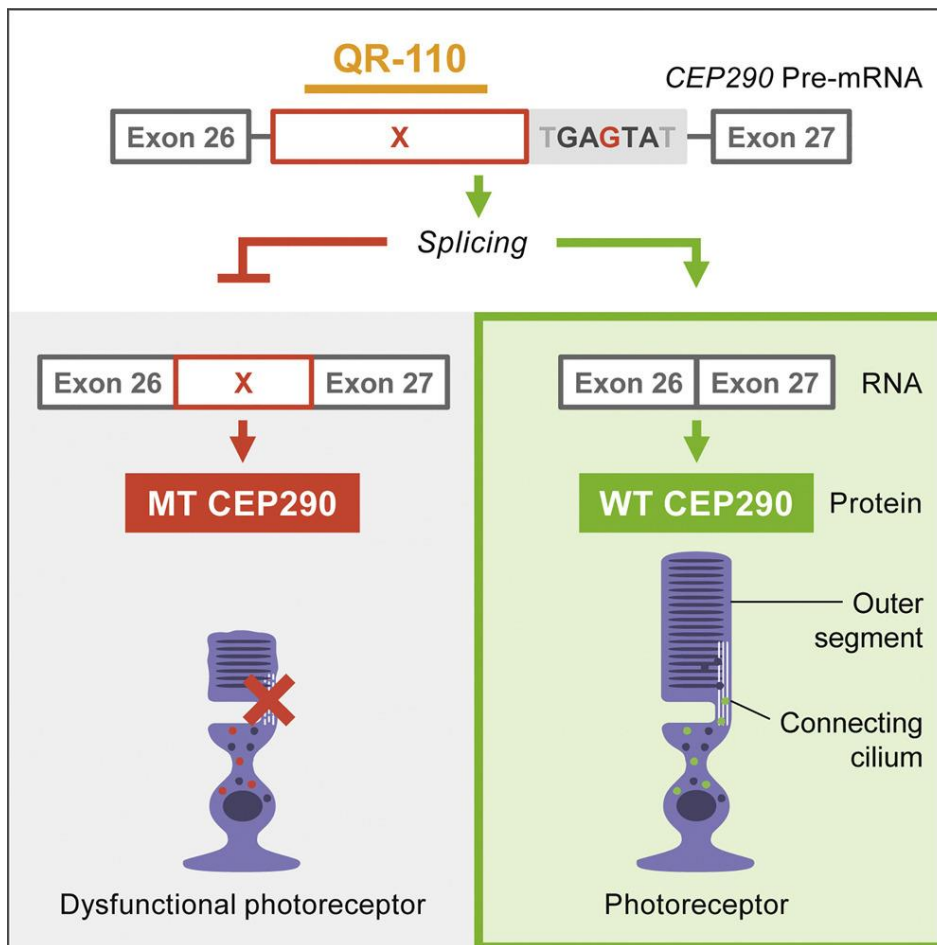


Abbildung 11: QR110-Wirkungsmechanismus

Quelle: Dulla et al., [30]

In einer Publikation aus der Phase-I/II-Studie zu Sepofarsen aus dem Jahr 2022 berichteten Russell et al. von den bisherigen Studienergebnissen. In dieser Studie erhielten 6 erwachsene Patienten und 5 pädiatrische Patienten eine intravitreale Gabe von Sepofarsen. Behandelt wurde dabei das Auge mit der schlechteren Sehfunktion. Das primäre Ziel der Studie war die Bewertung des Sicherheitsprofils und der Verträglichkeit

von Sepofarsen. Ferner fokussierte man sich auf die Pharmakokinetik und Wirksamkeit des Produkts. Sechs Patienten erhielten Sepofarsen 160µg/80µg und 5 Patienten Sepofarsen 320µg/160µg. 10 von 11 Patienten entwickelten okuläre Nebenwirkungen am behandelten Auge, ein Patient am unbehandelten Auge. Die meisten Nebenwirkungen wurden als mild eingestuft und waren dosisabhängig. Acht Patienten entwickelten Katarakte, von diesen wurden sechs als schwerwiegend eingestuft, ein Linsenersatz war erforderlich. Es konnten statistisch signifikante Verbesserungen der Sehschärfe und der Netzhautempfindlichkeit beobachtet werden. Weil die 160-µg/80-µg-Gruppe ein besseres Nutzen-Risiko-Profil zeigte, wurden höhere Dosen von Sepofarsen abgesetzt. Das Sicherheitsprofil sowie die beobachteten Verbesserungen unterstützten die Fortsetzung der Sepofarsen-Entwicklung. Die Studie wurde im April 2019 in Phase II/III überführt. [66]

3.9 Optogenetische Therapieansätze bei der LCA

Bei erblichen Netzhautdegenerationen werden laufend zahlreiche Therapieoptionen untersucht. Hierzu zählen Genergänzungsstrategien, Genomeditierung oder AON-vermittelte Therapie. Diese Therapieformen sind jedoch stark genspezifisch und nicht kausal für alle IRD-Formen anwendbar. Zudem ist bei der Mehrheit der Gentherapeutika eine bleibende Restfunktion der Retina für den Therapieerfolg vorausgesetzt. [68]

Ist ein frühzeitiger therapeutischer Eingriff aufgrund eines ausgeprägten Fotorezeptorverlusts nicht mehr möglich, die Zellschichten in der neuralen Netzhaut jedoch erhalten, so besteht die Möglichkeit einer universellen Genersatztherapie, die unabhängig von der genetischen Ursache der zugrundeliegenden IRD ist. Bei der Optogenetik werden also keine spezifischen Gene oder Mutationen behandelt. Stattdessen werden Transgene in die Netzhaut eingebracht, die Opsine oder andere lichtempfindliche Moleküle produzieren. Hiermit kann eine retinale Zellpopulation, die durch eine ektopische Expression eines Opsinproteins lichtempfindlich gemacht wurde, aktiviert werden. In den verbleibenden inneren Netzhautzellen wird somit die Lichtempfindlichkeit erhöht und die wahrgenommenen Signale werden über verbleibende Neuronen an das Gehirn übertragen. Die optogenetische Therapie nutzt somit die Methode der Neuromodulation, um das Sehvermögen wiederherzustellen. Somit kann das Sehvermögen erhalten bleiben oder wiederhergestellt werden, auch wenn Fotorezeptorzellen nicht mehr funktionstüchtig sind. [67,68,69]

Aktuell laufen einige klinische Studien, die den optogenetischen Therapieansatz überprüfen. Vielversprechend ist hierbei das Opsin-Produkt MCO-010, welches in

klinischen Studien zur Behandlung von Retinitis pigmentosa und Stargardt-Disease untersucht wird. MCO-010 wird über eine intravitreale Injektion appliziert, mithilfe von adeno-assoziierten Vektoren des Serotyps AAV2 übertragen und anschließend freigesetzt. Die bisherigen Studienergebnisse der randomisierten Phase-IIb-RESTORE-Studie (NCT04945772) zur Beurteilung der Wirksamkeit und Sicherheit von MCO-010 bei Patienten mit einer fortgeschrittenen Retinitis pigmentosa wurden im Juni 2023 von Boyer et al. publiziert. Es konnte eine bedeutsame Verbesserung des Sehvermögens bei den Studienteilnehmern und Studienteilnehmerinnen, die bereits unter einer fortgeschrittenen Retinadegeneration litten, beobachtet werden. Die optogenetische Therapie mit MCO-010 zeigte hiermit das Potenzial, das Sehvermögen unabhängig von der ursprünglichen Genmutation wiederherzustellen, indem bipolare Netzhautzellen fotosensibilisiert werden, wodurch in weiterer Folge eine retinale Lichtwahrnehmung ermöglicht wird. [70]

4 Diskussion

Die Leber'sche kongenitale Amaurose ist eine schwerwiegende retinale Erkrankung aus der Gruppe der erblichen Netzhautdystrophien, die zu einer Degeneration der lichtempfindlichen Stäbchen und Zapfen der Netzhaut führt. Dies resultiert in weiterer Folge in schweren Sehbehinderungen und schließlich in einer Erblindung. Die Sehbeeinträchtigung besteht bei den meisten LCA-Betroffenen seit der Geburt und zeigt einen progressiven Krankheitsverlauf. [1]

Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag auf der Zusammenfassung der derzeit für die LCA verfügbaren Gentherapeutika sowie jener gentherapeutischer Behandlungsansätze, die sich aktuell in der präklinischen Entwicklung bzw. in der Phase der klinischen Erprobung befinden. Durch den Einschluss der neuesten Studienergebnisse wurden der aktuelle Wissensstand und Forschungsstand zur LCA-Gentherapie zusammengefasst und beurteilt sowie eine Übersicht über die aktuell laufenden klinischen Studien gegeben. Um das Outcome der jeweiligen Behandlungsansätze zu beurteilen, lag hierbei der Fokus auf der Zusammenfassung der bisherigen Therapieerfolge sowie der aufgetretenen unerwünschten Ereignisse. Die Daten dafür wurden aus den bisher publizierten Studien und Berichten entnommen. Ferner wurden in dieser Literaturarbeit molekulargenetische Hintergründe zu den jeweiligen Gentherapeutika zusammengefasst und erläutert.

4.1 Das Risiko-Nutzen-Profil der Gentherapie bei der LCA

In den letzten Jahren konnten auf dem Feld der Gentherapeutikaentwicklung für die LCA große Meilensteine erreicht werden. Im Mittelpunkt der Therapieentwicklung standen dabei Behandlungsansätze wie die AAV-vektorenvermittelte Gensatztherapie, die Geneditierungstherapie mittels CRISPR/Cas9-Technologie, die Antisense-Oligonukleotiden-vermittelte Therapie sowie die optogenetische Therapie. Ein erheblicher Teil der laufenden klinischen Studien befasst sich aktuell mit den vektorvermittelten Genergänzungsstrategien.

Ein wichtiger Fortschritt in der Gentherapie wurde 2017 mit der Zulassung des Gentherapeutikums Voretigen Neparvovec (Luxturna) durch die FDA und EMA zur Behandlung biallelischer, mit *RPE65*-Mutationen assoziierter Netzhautdystrophien erzielt. Voretigen neparvovec beruht in seiner Wirkungsweise auf dem Einsatz der Genaugmentationstherapie mittels AAV-Vektoren und führte seit seiner Zulassung bei den meisten behandelten Patienten und Patientinnen mit einer *RPE65*-assoziierten LCA zu

einer signifikanten Verbesserung des Sehens im Dunklen, zu einer besseren Orientierung bei schwachem Licht sowie zu einer signifikanten Verbesserung der retinalen Lichtempfindlichkeit. Dies führte folglich zu einer spürbaren Verbesserung der Lebensqualität bei behandelten LCA-Patienten und -Patientinnen. [29,41] In den publizierten Studien und Berichten konnte wiederholt gezeigt werden, dass das Alter einer der wichtigsten therapieausgangbeeinflussenden Faktoren ist, wobei jüngere Patienten einen größeren funktionellen Nutzen haben als ältere. [41,42,45,51] Der Grund dafür, dass die stärksten Verbesserungen des Sehvermögens beim jungen Patientenkollektiv verzeichnet werden konnten, ist höchstwahrscheinlich eine noch gut erhaltene Struktur des retinalen Pigmentepithels bei jungen Patienten. Dieses ist für einen erfolgreichen Therapieausgang mit vektorvermittelten Gensersatztherapien vorausgesetzt. [41]

Die Gentherapie-Vektoren werden subretinal, also unter die Netzhaut, injiziert. Das Auge als Ort der Therapieverabreichung bietet dabei mehrere Vorteile, wie etwa das Immunprivileg, durch welches die Immunantwort gegenüber Antigenen deutlich herabgesetzt ist, die leichte Zugänglichkeit zum Verabreichungsort sowie die Möglichkeit, das kontralaterale Auge als Kontrolle zu verwenden. [40] Bei dem therapeutischen Eingriff besteht jedoch ein gewisses Risiko für die Schädigung der fragilen Netzhaut. Seit der Luxturna®-Zulassung wurde in mehreren Publikationen vom Auftreten einer potenziell schwerwiegenden Therapienebenwirkung, nämlich der retinalen Atrophie, berichtet. [49,46,47,48]. Hierbei zeigte die Atrophie im perifovealen Bereich die rascheste Progression. [49] Interessanterweise scheinen jedoch die funktionellen Vorteile der Behandlung durch die Atrophie nicht beeinträchtigt zu sein und bleiben auch dann stabil, wenn die Atrophie die zentralen Bereiche umfasst. [46] Neuste Studien konnten einen positiven Zusammenhang zwischen der Atrophie-Entwicklung nach der Therapie mit Voretigen neparvovec und einem positiven Therapieausgang beobachten. [52,53] In einer Studie von Stingl et al. [52] aus dem Jahr 2024 konnte dabei gezeigt werden, dass die Atrophien sich zwar vornehmlich im Bereich der stärksten postoperativen Stäbchengenesung entwickeln, die Stäbchen mit dem größten Empfindlichkeitsgewinn allerdings nicht ein Teil dieser progressiven Atrophie sind. [52] Um diese Beobachtungen endgültig zu bewerten, sind jedoch weitere Untersuchungen in diesem Bereich notwendig. Würde sich bei weiteren publizierten Studien und Berichten bestätigen, dass die Atrophien nicht die empfindlichkeitsstärksten Stäbchen betreffen und die Therapieerfolge auch langfristig erhalten bleiben, könnte in der Risiko-Nutzen-Abwägung das Verhältnis stärker auf die Seite des Nutzens verschoben werden. Eine weitere ernstzunehmende

Komplikation der vektorenvermittelten intraokulären Gentherapie ist das Auftreten intraokulärer Inflammationen. Diese scheinen jedoch gut auf eine immunsuppressive Therapie anzusprechen und keinen Einfluss auf den visuellen Therapieausgang zu haben. [50]

In dieser Literaturarbeit wurden in weiterer Folge vektorenvermittelte Gentherapeutika, welche sich in der Phase der Entwicklung oder klinischer Erprobung befinden, vorgestellt. Vielversprechend ist hierbei die Gentherapie mit ATSN-101 für die *GUCY2D*-assoziierte LCA. ATSN-101 führte in den klinischen Studien zu signifikanten Verbesserungen des Sehvermögens, insbesondere der retinalen Lichtempfindlichkeit. [55] Weiterhin konnten signifikante Erfolge sowie ein günstiges Sicherheitsprofil in den klinischen Studien für die Therapie der *AIPL1*-assoziierten LCA mit rAAV8.hRKp.AIPL1 beobachtet werden. Die Studienergebnisse indizieren einen deutlichen Benefit für betroffene Kleinkinder mit *AIPL1*-assoziiierter LCA. Diese Form der LCA gehört zu den schwerwiegendsten LCA-Arten mit dem progressivsten Phänotyp. Da all diese Therapien ein sehr gutes Risiko-Nutzen-Profil aufweisen, könnten sie nach ihrer potenziellen zukünftigen Zulassung die Anwendungsmöglichkeiten der ophthalmologischen Gentherapie deutlich erweitern. [57]

Neben den vektorenvermittelten gentherapeutischen Ansätzen wurden in dieser Arbeit ebenfalls die CRISPR/Cas9-gentherapeutischen Behandlungstechnologien im Detail vorgestellt. Die derzeit laufenden klinischen Zulassungsstudien für den Editierungskomplex Edit-101 bei Patienten mit einer *CEP290*-Mutation überprüfen aktuell die Sicherheit, Verträglichkeit und Wirksamkeit der Edit-101-Anwendung bei pädiatrischen und nichtpädiatrischen Studienteilnehmern. Die bisher veröffentlichten Studienergebnisse weisen auf ein sehr gutes Wirksamkeits- und Sicherheitsprofil hin, was weitere Forschungsinitiativen in Richtung der Geneditierung zur Behandlung vererbter Netzhautdystrophien unterstützt. [21,22]

Auch weitere Therapieansätze wie etwa die Verwendung von Antisense-Oligonukleotiden oder der Optogenetik konnten in der klinischen Erprobung von ihrer Wirksamkeit und Sicherheit überzeugen. Die zufriedenstellenden Studienergebnisse führten dabei sowohl beim QR-110 als auch beim MCO-010 zur Fortsetzung der weiteren Entwicklung dieser Gentherapeutika. [66,70] Der große Vorteil der optogenetischen Therapie mit MCO-010 ist, dass diese nicht genspezifisch und somit kausal für viele IRD-Formen anwendbar ist. Zusätzlich erfordert sie für einen positiven Therapieausgang keine bleibende retinale Restfunktion und könnte somit auch bei Patienten anwendbar sein, bei

welchen die Fotorezeptoren der Netzhaut nicht mehr funktionstüchtig sind. Die optogenetische Therapie mit MCO-010 wurde jedoch bis jetzt nur bei Patienten mit Retinitis pigmentosa untersucht. [68] Durch die weiteren zukünftigen Entwicklungen wäre aber der optogenetische Behandlungsansatz auch für Patienten mit einer LCA vorstellbar.

4.2 Herausforderungen der Gentherapie bei der LCA

Die Gentherapie bei der Leber'schen kongenitalen Amaurose hat in den letzten Jahren erhebliche Fortschritte erzielt und vielen LCA-Betroffenen die Hoffnung gebracht, die Progression ihrer Erkrankung aufhalten zu können und im Idealfall das Sehvermögen zu verbessern bzw. wiederherzustellen. Trotz des Durchbruchs der Gensatztherapie und der Geneditierungstherapie bleiben jedoch zahlreiche Herausforderungen bestehen. So führen die Therapien mit AAV-vektorvermittelten Vektoren wie Luxturna® bei der Mehrheit der behandelten Patienten zu signifikanten Therapieerfolgen und Verbesserungen des klinischen Bildes, [41] sie sind jedoch stark genspezifisch und nicht allgemein bei allen LCA-Fällen anwendbar. [68] Die Möglichkeit der Therapie besteht somit nur bei einem Bruchteil aller LCA-Erkrankten. Die Vektoren haben zudem nur eine begrenzte Verpackungskapazität, was sich als problematisch bei jenen Therapieentwicklungen erwiesen hat, deren Ziel die Expression umfangreicher Proteine, wie etwa des CRB1, ist. [7] Die vektorvermittelte Gentherapie ist zudem mit sehr hohen Kosten verbunden. Diese belaufen sich bei Voretigen neparvovec derzeit auf 800.000-1.000.000 Euro/Behandlung und führen zu einer Herausforderung bezüglich der Zugänglichkeit des Therapeutikums für potenzielle Therapiekandidaten, insbesondere in einkommensschwachen Ländern. [29]

Die okuläre Gentherapie nutzt bei der subretinalen bzw. intravitrealen Präparatverabreichung die Vorteile des Immunprivilegs und der leichten Zugänglichkeit zu retinalen Strukturen. [40] Trotz des Immunprivilegs konnte jedoch beobachtet werden, dass die vektorenvermittelten Gentherapien mit AAV-Vektoren okuläre Inflammationen auslösen können. [50,51] Der operative Eingriff am Auge ist zudem mit dem Auftreten von operativen und postoperativen Komplikationen assoziiert, wie etwa mit retinalen Irritationen und retinalen Traumen. [29,73] Verfügbare Erfahrungsberichte und breite Kenntnisse über optimale subretinale bzw. intravitreale Injektionstechnik sowie über verschiedene operative Einflussfaktoren können dabei das operative Ergebnis optimieren und so das Sicherheitsprofil des angewendeten Gentherapeutikums verbessern. [72] Zu einer großen Herausforderung der Gensatztherapie mit Voretigen neparvovec gehört schließlich die hohe Rate an progressiven chorioretinalen Atrophien, die postoperativ bei

behandelten Patienten und Patientinnen auftreten können. In dieser Hinsicht sind weitere Studien notwendig, um zu bestimmen, welche okulären, operativen bzw. vektorbezogenen Faktoren bei der Atrophieentwicklung eine Rolle spielen. [47]

Die Therapien mit CRISPR/Cas9-basierten Technologien sind zwar mit deutlich niedrigeren Kosten verbunden und würden eine finanziell sinnvolle Alternative zur Genersatztherapie anbieten, [71] sie lösen jedoch Sicherheitsbedenken im Zusammenhang mit Off-Target-Effekten aus, also Veränderungen an ungewollten DNA-Bereichen, sowie Bedenken in Bezug auf unbeabsichtigte genetische Veränderungen mit einer potenziellen Zellentartung. Zudem muss der ethische und regulatorische Rahmen exakt definiert werden, um eine sichere und ethische Anwendung der Geneditierungstechnologien zu gewährleisten. [58]

4.3 Zukunftsaussichten

Bei der Entwicklung okulärer Gentherapien konnten in den vergangenen Jahren große Meilensteine erreicht werden. Da jedoch noch zahlreiche Herausforderungen vorliegen, bedarf es weiterer Forschung, um diese Therapien in Bezug auf die Therapienebenwirkungen, maximale Wirksamkeit und breite Verfügbarkeit zu optimieren und ihr volles Potenzial auszuschöpfen.

Um diese Herausforderungen zu überwinden, liegen zukünftige Schwerpunkte in der Entwicklung von Therapiestrategien, die zur Reduzierung von unerwünschten Ereignissen bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung der therapeutischen Wirkung führen. [40]

Die Gentherapieentwicklung für erbliche Netzhautdystrophien stellt ein neues medizinisches Forschungsfeld dar. Aus diesem Grund sind weitere Forschungen und Untersuchungen notwendig, um langfristige Daten zur Sicherheit und Wirksamkeit dieser Therapien zu gewinnen und ihre Auswirkungen auf die Lebensqualität der Patienten zu beurteilen. [58]

Die rasante Entwicklung der Technologie im Bereich der Gentherapien hat ein großes Potenzial, die Behandlung zahlreicher genetischer Erkrankungen zu revolutionieren. Sie bietet eine hervorragende Perspektive für Patienten mit derzeit nicht kurativ behandelbaren genetischen Krankheiten.

4.4 Limitationen und Grenzen der Arbeit

Diese Arbeit wurde als Literatur-Review geführt. Dies kann mit potenziellen Limitationen vergesellschaftet sein. Als Limitation muss an dieser Stelle angeführt werden,

dass die Literaturrecherche ausschließlich auf deutschsprachige und englischsprachige Publikationen beschränkt war. Die Literatursuche war auf die Datenbanken MEDLINE und Cochrane Library begrenzt, was dazu führen kann, dass relevante Studien, welche in anderen Datenbanken enthalten sind, nicht erfasst wurden. Auch die Einschränkungen durch kostenpflichtige wissenschaftliche Journale und geschlossene Archive können zu einer potenziell selektiven Auswahl der Publikationen führen. Die erwähnten Faktoren können somit die Generalisierbarkeit der Ergebnisse dieser Arbeit einschränken.

Literaturverzeichnis

1. Huang, Chu-Hsuan, Chung-May Yang, Chang-Hao Yang, Yu-Chih Hou, und Ta-Ching Chen. „Leber’s Congenital Amaurosis: Current Concepts of Genotype-Phenotype Correlations“. *Genes* 12, Nr. 8 (19. August 2021): 1261. <https://doi.org/10.3390/genes12081261>.
2. Kumaran, Neruban, Mark E. Pennesi, Paul Yang, Karmen M. Trzupsek, Catherine Schlechter, Anthony T. Moore, Richard G. Weleber, und Michel Michaelides. „Leber Congenital Amaurosis / Early-Onset Severe Retinal Dystrophy Overview“. In *GeneReviews®*, herausgegeben von Margaret P. Adam, Jerry Feldman, Ghayda M. Mirzaa, Roberta A. Pagon, Stephanie E. Wallace, Lora JH Bean, Karen W. Gripp, und Anne Amemiya. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531510/>.
3. Kumaran, Neruban, Michalis Georgiou, James W. B. Bainbridge, Mette Bertelsen, Michael Larsen, Fiona Blanco-Kelly, Carmen Ayuso, u. a. „Retinal Structure in RPE65-Associated Retinal Dystrophy“. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 61, Nr. 4 (9. April 2020): 47. <https://doi.org/10.1167/iovs.61.4.47>.
4. Georgiou, Michalis, Kaoru Fujinami, und Michel Michaelides. „Inherited Retinal Diseases: Therapeutics, Clinical Trials and End Points—A Review“. *Clinical & Experimental Ophthalmology* 49, Nr. 3 (2021): 270–88. <https://doi.org/10.1111/ceo.13917>.
5. Chien, Jia-Ying, und Shun-Ping Huang. „Gene Therapy in Hereditary Retinal Dystrophy“. *Tzu Chi Medical Journal* 34, Nr. 4 (2022): 367–72. https://doi.org/10.4103/tcmj.tcmj_78_22.
6. Fenner, Beau J., Tien-En Tan, Amutha Veluchamy Barathi, Sai Bo Bo Tun, Sia Wey Yeo, Andrew S. H. Tsai, Shu Yen Lee, u. a. „Gene-Based Therapeutics for Inherited Retinal Diseases“. *Frontiers in Genetics* 12 (7. Januar 2022): 794805. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.794805>
7. Georgiou, Michalis, Anthony G. Robson, Kaoru Fujinami, Thales A. C. de Guimarães, Yu Fujinami-Yokokawa, Malena Daich Varela, Nikolas Pontikos, u. a. „Phenotyping and genotyping inherited retinal diseases: Molecular genetics, clinical and imaging features, and therapeutics of macular dystrophies, cone and cone-rod dystrophies, rod-cone dystrophies, Leber congenital amaurosis, and cone dysfunction syndromes“. *Progress in Retinal and Eye Research* 100 (1. Mai 2024): 101244. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2024.101244>.
8. Künzel, Sandrine H., Elias Mahren, Mitjan Morr, Frank G. Holz, Birgit Lorenz, Josef März, Ines Nagel, u. a. „Diagnostik und Management von Patient*innen mit erblichen Netzhautdegenerationen in Deutschland“. *Die Ophthalmologie* 120, Nr. 11 (1. November 2023): 1127–37. <https://doi.org/10.1007/s00347-023-01902-9>.
9. Heath Jeffery, Rachael C., Syed Aqif Mukhtar, Ian L. McAllister, William H. Morgan, David A. Mackey, und Fred K. Chen. „Inherited retinal diseases are the

- most common cause of blindness in the working-age population in Australia“. *Ophthalmic Genetics* 42, Nr. 4 (4. Juli 2021): 431–39. <https://doi.org/10.1080/13816810.2021.1913610>.
10. Crewe, Julie M., Nigel Morlet, William H. Morgan, Katrina Spilsbury, Aqif S. Mukhtar, Antony Clark, und James B. Semmens. „Mortality and Hospital Morbidity of Working-Age Blind“. *British Journal of Ophthalmology* 97, Nr. 12 (1. Dezember 2013): 1579–85. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-303993>.
 11. X Mayro, Eileen L., Ann P. Murchison, Lisa A. Hark, Marlee Silverstein, Olivia Y. Wang, John P. Gilligan, Benjamin E. Leiby, u. a. „Prevalence of Depressive Symptoms and Associated Factors in an Urban, Ophthalmic Population“. *European Journal of Ophthalmology* 31, Nr. 2 (März 2021): 740–47. <https://doi.org/10.1177/1120672120901701>.
 12. Gong, Jennifer, Simone Cheung, Alivia Fasso-Opie, Orla Galvin, Larissa S Moniz, Doug Earle, Todd Durham, u. a. „The Impact of Inherited Retinal Diseases in the United States of America (US) and Canada from a Cost-of-Illness Perspective“. *Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)* 15 (1. Juli 2021): 2855–66. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S313719>.
 13. Mühlfriedel, R., V. Sothilingam, N. Tanimoto, und M. W. Seeliger. „Generatztherapie bei hereditären Netzhauterkrankungen“. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde* 234, Nr. 03 (März 2017): 320–28. <https://doi.org/10.1055/s-0043-101817>.
 14. Kondkar, Altaf A., und Khaled K. Abu-Amero. „Leber Congenital Amaurosis: Current Genetic Basis, Scope for Genetic Testing and Personalized Medicine“. *Experimental Eye Research* 189 (Dezember 2019): 107834. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107834>.
 15. Chiu, Wei, Ting-Yi Lin, Yun-Chia Chang, Henkie Isahwan-Ahmad Mulyadi Lai, Shen-Che Lin, Chun Ma, Aliaksandr A. Yarmishyn, u. a. „An Update on Gene Therapy for Inherited Retinal Dystrophy: Experience in Leber Congenital Amaurosis Clinical Trials“. *International Journal of Molecular Sciences* 22, Nr. 9 (26. April 2021): 4534. <https://doi.org/10.3390/ijms22094534>.
 16. Yoganathan, Sangeetha, Madhan Kumar, Deepa John, Sumita Danda, Samuel P. Oommen, Sayli B. Umakant, und Maya Thomas. „Oculodigital Sign: A Clinical Clue for Diagnosis“. *Annals of Indian Academy of Neurology* 25, Nr. 3 (2022): 560–61. https://doi.org/10.4103/aian.aian_755_21.
 17. Zobor, Ditta, Britta Brühwiler, Eberhart Zrenner, Nicole Weisschuh, und Susanne Kohl. „Genetic and Clinical Profile of Retinopathies Due to Disease-Causing Variants in Leber Congenital Amaurosis (LCA)-Associated Genes in a Large German Cohort“. *International Journal of Molecular Sciences* 24, Nr. 10 (17. Mai 2023): 8915. <https://doi.org/10.3390/ijms24108915>.
 18. Moiseyev, Gennadiy, Ying Chen, Yusuke Takahashi, Bill X. Wu, und Jian-xing Ma. „RPE65 is the isomerohydrolase in the retinoid visual cycle“. *Proceedings of*

- the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, Nr. 35 (30. August 2005): 12413–18. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503460102>.
19. Bouzia, Zaina, Michalis Georgiou, Sarah Hull, Anthony G. Robson, Kaoru Fujinami, Tryfon Rotsos, Nikolas Pontikos, u. a. „GUCY2D-Associated Leber Congenital Amaurosis: A Retrospective Natural History Study in Preparation for Trials of Novel Therapies“. *American Journal of Ophthalmology* 210 (Februar 2020): 59–70. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2019.10.019>.
 20. Jacobson, Samuel G., Artur V. Cideciyan, Allen C. Ho, Alejandro J. Roman, Vivian Wu, Alexandra V. Garafalo, Alexander Sumaroka, u. a. „Night Vision Restored in Days after Decades of Congenital Blindness“. *iScience* 25, Nr. 10 (21. Oktober 2022). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105274>.
 21. Pierce, E.A., T.S. Aleman, K.T. Jayasundera, B.S. Ashimatey, K. Kim, A. Rashid, M.C. Jaskolka, u. a. „Gene Editing for CEP290-Associated Retinal Degeneration“. *The New England journal of medicine* 390, Nr. 21 (6. Juni 2024): 1972–84. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2309915>.
 22. Maeder, Morgan L., Michael Stefanidakis, Christopher J. Wilson, Reshica Baral, Luis Alberto Barrera, George S. Bounoutas, David Bumcrot, u. a. „Development of a Gene-Editing Approach to Restore Vision Loss in Leber Congenital Amaurosis Type 10“. *Nature Medicine* 25, Nr. 2 (Februar 2019): 229–33. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0327-9>.
 23. Cideciyan, Artur V., Samuel G. Jacobson, Allen C. Ho, Malgorzata Swider, Alexander Sumaroka, Alejandro J. Roman, Vivian Wu, u. a. „Durable vision improvement after a single intravitreal treatment with antisense oligonucleotide in CEP290-LCA: Replication in two eyes“. *American Journal of Ophthalmology Case Reports* 32 (1. Dezember 2023): 101873. <https://doi.org/10.1016/j.ajoc.2023.101873>.
 24. Boon, Nanda, Xuefei Lu, Charlotte A. Andriessen, Ioannis Moustakas, Thilo M. Buck, Christian Freund, Christiaan H. Arendzen, Stefan Böhringer, Hailiang Mei, und Jan Wijnholds. „AAV-Mediated Gene Augmentation Therapy of CRB1 Patient-Derived Retinal Organoids Restores the Histological and Transcriptional Retinal Phenotype“. *Stem Cell Reports* 18, Nr. 5 (9. Mai 2023): 1123–37. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2023.03.014>.
 25. Bujakowska, Kinga, Isabelle Audo, Saddek Mohand-Saïd, Marie-Elise Lancelot, Aline Antonio, Aurore Germain, Thierry Léveillard, u. a. „CRB1 mutations in inherited retinal dystrophies“. *Human Mutation* 33, Nr. 2 (Februar 2012): 306–15. <https://doi.org/10.1002/humu.21653>.
 26. Daich Varela, Malena, Michalis Georgiou, Yahya Alswaiti, Jamil Kabbani, Kaoru Fujinami, Yu Fujinami-Yokokawa, Shaheeni Khoda, u. a. „CRB1-Associated Retinal Dystrophies: Genetics, Clinical Characteristics, and Natural History“. *American Journal of Ophthalmology* 246 (Februar 2023): 107–21. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2022.09.002>.

27. Simunovic, M. P., W. Shen, J. Y. Lin, D. A. Protti, L. Lisowski, und M. C. Gillies. „Optogenetic approaches to vision restoration“. *Experimental Eye Research* 178 (1. Januar 2019): 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.09.003>.
28. Liu, Dequan, Tian Li, Lei Liu, Xiangyu Che, Xiaorui Li, Chang Liu, und Guangzhen Wu. „Adeno-associated virus therapies: Pioneering solutions for human genetic diseases“. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 80 (1. Dezember 2024): 109–20. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2024.09.003>.
29. Jäschke, Nico Martin, und Hildegard Büning. „AAV-Vektoren – die imposante Karriere eines Parvovirus“. In *Gen- und Zelltherapie 2.023 - Forschung, klinische Anwendung und Gesellschaft: AG Gentechnologiebericht mit freundlicher Unterstützung der DG-GT und des GSCN*, herausgegeben von Boris Fehse, Hannah Schickl, Sina Bartfeld, und Martin Zenke, 51–71. Berlin, Heidelberg: Springer, 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-662-67908-1_4.
30. Dulla, Kalyan, Monica Aguila, Amelia Lane, Katarina Jovanovic, David A. Parfitt, Iris Schulkens, Hee Lam Chan, u. a. „Splice-Modulating Oligonucleotide QR-110 Restores CEP290 mRNA and Function in Human c.2991+1655A>G LCA10 Models“. *Molecular Therapy - Nucleic Acids* 12 (7. September 2018): 730–40. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.07.010>.
31. Mendell, Jerry R., Anne M. Connolly, Kelly J. Lehman, Danielle A. Griffin, Sohrab Z. Khan, Sachi D. Dharia, Lucía Quintana-Gallardo, und Louise R. Rodino-Klapac. „Testing preexisting antibodies prior to AAV gene transfer therapy: rationale, lessons and future considerations“. *Molecular Therapy. Methods & Clinical Development* 25 (26. Februar 2022): 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2022.02.011>.
32. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), “Luxturna assessment report”, 20. September 2018
https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/luxturna-epar-public-assessment-report_en.pdf
33. Baylot, Virginie, Thi Khanh Le, David Taïeb, Palma Rocchi, und Laurence Colleaux. „Between Hope and Reality: Treatment of Genetic Diseases through Nucleic Acid-Based Drugs“. *Communications Biology* 7, Nr. 1 (23. April 2024): 1–17. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06121-9>.
34. „Introduction“. In *Clinical Review Report: Voretigene Neparvovec (Luxturna): (Novartis Pharmaceuticals Canada Inc.): Indication: Vision Loss, Inherited Retinal Dystrophy [Internet]*. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK569040/>.
35. Stingl, Krunoslav, Melanie Kempf, Ronja Jung, Friederike Kortüm, Giulia Righetti, Milda Reith, Spyridon Dimopoulos, Saskia Ott, Susanne Kohl, und Katarina Stingl. „Therapy with voretigene neparvovec. How to measure success?“ *Progress in Retinal and Eye Research* 92 (1. Januar 2023): 101115. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2022.101115>.

36. Papaioannou, Ioannis, James S. Owen, und Rafael J. Yáñez-Muñoz. „Clinical Applications of Gene Therapy for Rare Diseases: A Review“. *International Journal of Experimental Pathology* 104, Nr. 4 (13. Mai 2023): 154. <https://doi.org/10.1111/iep.12478>.
37. Maguire, Albert M., Katherine A. High, Alberto Auricchio, J. Fraser Wright, Eric A. Pierce, Francesco Testa, Federico Mingozzi, u. a. „Age-Dependent Effects of RPE65 Gene Therapy for Leber’s Congenital Amaurosis: A Phase 1 Dose-Escalation Trial“. *The Lancet* 374, Nr. 9701 (7. November 2009): 1597–1605. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61836-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61836-5).
38. Simonelli, Francesca, Albert M. Maguire, Francesco Testa, Eric A. Pierce, Federico Mingozzi, Jeannette L. Bennicelli, Settimio Rossi, u. a. „Gene Therapy for Leber’s Congenital Amaurosis Is Safe and Effective Through 1.5 Years After Vector Administration“. *Molecular Therapy* 18, Nr. 3 (1. März 2010): 643–50. <https://doi.org/10.1038/mt.2009.277>.
39. Bennett, Jean, Jennifer Wellman, Kathleen A. Marshall, Sarah McCague, Manzar Ashtari, Julie DiStefano-Pappas, Okan U. Elci, u. a. „Safety and Durability of Effect of Contralateral-Eye Administration of AAV2 Gene Therapy in Patients with Childhood-Onset Blindness Caused by RPE65 Mutations: A Follow-on Phase 1 Trial“. *The Lancet* 388, Nr. 10045 (13. August 2016): 661–72. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30371-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30371-3).
40. Banou, Lamprini, Soshian Sarrafpour, Christopher C. Teng, und Ji Liu. „Ocular Gene Therapy: An Overview of Viral Vectors, Immune Responses, and Future Directions“. *The Yale Journal of Biology and Medicine* 97, Nr. 4 (Dezember 2024): 491–503. <https://doi.org/10.59249/HWID7537>.
41. B, Lorenz. „Long-Term Experience with Gene Augmentation Therapy in Patients with Inherited Retinal Disease Associated with Biallelic Mutations in RPE65“. *Medizinische Genetik : Mitteilungsblatt Des Berufsverbandes Medizinische Genetik e.V* 37, Nr. 1 (2. Dezember 2025). <https://doi.org/10.1515/medgen-2024-2067>.
42. Gerhardt, Maximilian J., Claudia S. Priglinger, Günther Rudolph, Karsten Hufendiek, Carsten Framme, Herbert Jägle, Daniel J. Salchow, Andreas Anschutz, Stylianos Michalakis, und Siegfried G. Priglinger. „Gene Therapy with Voretigene Neparvovec Improves Vision and Partially Restores Electrophysiological Function in Pre-School Children with Leber Congenital Amaurosis“. *Biomedicines* 11, Nr. 1 (30. Dezember 2022): 103. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11010103>.
43. Amato, A., W. Tschetter, L. Everett, S. T. Bailey, A. K. Lauer, P. Yang, und M. E. Pennesi. „Partial Rescue of the Full-Field Electroretinogram in Patients with RPE65-Related Retinal Dystrophy Following Gene Augmentation Therapy with Voretigene Neparvovec-Rzyl“. *Documenta Ophthalmologica. Advances in Ophthalmology* 149, Nr. 2 (Oktober 2024): 63–75. <https://doi.org/10.1007/s10633-024-09987-6>.
44. Kortüm, Friederike C., Melanie Kempf, Ronja Jung, Susanne Kohl, Saskia Ott, Constanze Kortuem, Krunoslav Sting, und Katarina Stingl. „Short Term

- Morphological Rescue of the Fovea after Gene Therapy with Voretigene Neparvovec“. *Acta Ophthalmologica* 100, Nr. 3 (Mai 2022): e807–12.
<https://doi.org/10.1111/aos.14990>.
45. Daruich Alejandra, Retaux Maxence, Batté Emilie, de Vergnes Nathalie, Valleix Sophie, Robert Matthieu, Gignac Dominique. „12-month outcomes after voretigene neparvovec gene therapy in paediatric patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy | *British Journal of Ophthalmology*“, (November 2024)
<https://bjo.bmj.com/content/109/2/281>.
46. Reichel, Felix Friedrich, Immanuel Seitz, Fabian Wozar, Spyridon Dimopoulos, Ronja Jung, Melanie Kempf, Susanne Kohl, u. a. „Development of Retinal Atrophy after Subretinal Gene Therapy with Voretigene Neparvovec“. *The British Journal of Ophthalmology* 107, Nr. 9 (September 2023): 1331–35.
<https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2021-321023>.
47. Gange, William S., Robert A. Sisk, Cagri G. Besirli, Thomas C. Lee, Margaret Havunjian, Hillary Schwartz, Mark Borchert, u. a. „Perifoveal Chorioretinal Atrophy after Subretinal Voretigene Neparvovec-Rzyl for RPE65-Mediated Leber Congenital Amaurosis“. *Ophthalmology. Retina* 6, Nr. 1 (Januar 2022): 58–64.
<https://doi.org/10.1016/j.oret.2021.03.016>.
48. Giansanti, Fabrizio, Dario Pasquale Mucciolo, Andrea Sodi, Dario Giorgio, Gianni Virgili, und Vittoria Murro. „Retinal Pigment Epithelium Atrophy After Subretinal Voretigene Neparvovec-rzyl for RPE65-Related Disease: A 6-Month Follow-Up“. *Retina (Philadelphia, Pa.)* 42, Nr. 12 (Dezember 2022): e55–56.
<https://doi.org/10.1097/IAE.00000000000003576>.
49. Bommakanti, Nikhil, Benjamin K Young, Robert A Sisk, Audina M Berrocal, Jacque L Duncan, Benjamin Bakall, Marc T Mathias, u. a. „Classification and growth rate of chorioretinal atrophy after voretigene neparvovec-rzyl for RPE65-mediated retinal degeneration“. *Ophthalmology. Retina* 8, Nr. 1 (Januar 2024): 42–48.
<https://doi.org/10.1016/j.oret.2023.08.017>.
50. Kessel, Line, Ulrik Correll Christensen, und Kristian Klemp. „Inflammation after Voretigene Neparvovec Administration in Patients with RPE65-Related Retinal Dystrophy“. *Ophthalmology* 129, Nr. 11 (November 2022): 1287–93.
<https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2022.06.018>.
51. Rebelo Neves, Emmanuel, Ana Luísa Carvalho, Teresa Mesquita, Catarina Paiva, Mário Alfaiate, João Figueira, Joaquim Murta, und João Pedro Marques. „Bilateral functional worsening following voretigene neparvovec therapy“. *Eye* 37, Nr. 13 (September 2023): 2828–29. <https://doi.org/10.1038/s41433-023-02411-4>.
52. Stingl, Krunoslav, Melanie Kempf, Ronja Jung, und Katarina Stingl. „Chorioretinal Atrophy Growth After Voretigene Neparvovec Retinotopically Is Connected to Retinal Functional Rescue“. *Translational Vision Science & Technology* 13, Nr. 2 (1. Februar 2024): 13. <https://doi.org/10.1167/tvst.13.2.13>.

53. Stingl, Katarina, Krunoslav Stingl, Hillary Schwartz, Mark W. Reid, Melanie Kempf, Spyridon Dimopoulos, Friederike Kortuem, Mark S. Borchert, Thomas C. Lee, und Aaron Nagiel. „Full-Field Scotopic Threshold Improvement after Voretigene Neparvovec-Rzyl Treatment Correlates with Chorioretinal Atrophy“. *Ophthalmology* 130, Nr. 7 (Juli 2023): 764–70.
<https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2023.02.015>.
54. Atsena Therapeutics Inc. „A Phase 1/2 Dose Escalation Study of Subretinally Injected ATSN-101 Administered in Patients With Leber Congenital Amaurosis Caused by Biallelic Mutations in GUCY2D“. Clinical trial registration. clinicaltrials.gov, 16. Februar 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03920007>.
55. Yang, Paul, Laura P. Pardon, Allen C. Ho, Andreas K. Lauer, Dan Yoon, Shannon E. Boye, Sanford L. Boye, u. a. „Safety and Efficacy of ATSN-101 in Patients with Leber Congenital Amaurosis Caused by Biallelic Mutations in GUCY2D: A Phase 1/2, Multicentre, Open-Label, Unilateral Dose Escalation Study“. *Lancet (London, England)* 404, Nr. 10456 (7. September 2024): 962–70.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01447-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01447-8).
56. Boon, Nanda, Jan Wijnholds, und Lucie P. Pellissier. „Research Models and Gene Augmentation Therapy for CRB1 Retinal Dystrophies“. *Frontiers in Neuroscience* 14 (14. August 2020). <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00860>.
57. Michaelides, Michel, Yannik Laich, Sui Chien Wong, Ngozi Oluonye, Serena Zaman, Neruban Kumaran, Angelos Kalitzeos, u. a. „Gene Therapy in Children with AIPL1-Associated Severe Retinal Dystrophy: An Open-Label, First-in-Human Interventional Study“. *The Lancet* 405, Nr. 10479 (22. Februar 2025): 648–57.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)02812-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)02812-5).
58. Jain, Raina, und Sachin Daigavane. „Advances and Challenges in Gene Therapy for Inherited Retinal Dystrophies: A Comprehensive Review“. *Cureus* 16, Nr. 9 (o. J.): e69895. <https://doi.org/10.7759/cureus.69895>.
59. Ahmad, Irshad. „CRISPR/Cas9—A Promising Therapeutic Tool to Cure Blindness: Current Scenario and Future Prospects“. *International Journal of Molecular Sciences* 23, Nr. 19 (29. September 2022): 11482.
<https://doi.org/10.3390/ijms231911482>.
60. Costa, Joana R., Bruce E. Bejcek, James E. McGee, Adam I. Fogel, Kyle R. Brimacombe, und Robin Ketteler. „Genome Editing Using Engineered Nucleases and Their Use in Genomic Screening“. In *Assay Guidance Manual [Internet]*. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK464635/>.
61. Khoshandam, Mohadeseh, Hossein Soltaninejad, Marziyeh Mousazadeh, Amir Ali Hamidieh, und Saman Hosseinkhani. „Clinical applications of the CRISPR/Cas9 genome-editing system: Delivery options and challenges in precision medicine“. *Genes & Diseases* 11, Nr. 1 (1. Januar 2024): 268–82.
<https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.02.027>.

62. Editas Medicine, Inc. „Open-Label, Single Ascending Dose Study to Evaluate the Safety, Tolerability, and Efficacy of EDIT-101 in Adult and Pediatric Participants With Leber Congenital Amaurosis Type 10 (LCA10), With Centrosomal Protein 290 (CEP290)-Related Retinal Degeneration Caused by a Compound Heterozygous or Homozygous Mutation Involving c.2991+1655A>G in Intron 26 (IVS26) of the CEP290 Gene ("LCA10-IVS26")“. Clinical trial registration. clinicaltrials.gov, 2. Dezember 2022. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03872479>.
63. Quinn, Joel, Ayesha Musa, Ariel Kantor, Michelle E. McClements, Jasmina Cehajic-Kapetanovic, Robert E. MacLaren, und Kanmin Xue. „Genome-Editing Strategies for Treating Human Retinal Degenerations“. *Human Gene Therapy* 32, Nr. 5–6 (1. März 2021): 247–59. <https://doi.org/10.1089/hum.2020.231>.
64. Nie, Dengyun, Ting Guo, Miao Yue, Wenya Li, Xinyu Zong, Yinxing Zhu, Junxing Huang, und Mei Lin. „Research Progress on Nanoparticles-Based CRISPR/Cas9 System for Targeted Therapy of Tumors“. *Biomolecules* 12, Nr. 9 (September 2022): 1239. <https://doi.org/10.3390/biom12091239>.
65. ProQR Therapeutics. „Double-masked, Randomized, Controlled, Multiple-dose Study to Evaluate Efficacy, Safety, Tolerability and Syst. Exposure of QR-110 in Leber's Congenital Amaurosis (LCA) Due to c.2991+1655A>G Mutation (p.Cys998X) in the CEP290 Gene“. Clinical trial registration. clinicaltrials.gov, 2. März 2022. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03913143>.
66. Russell, Stephen R., Arlene V. Drack, Artur V. Cideciyan, Samuel G. Jacobson, Bart P. Leroy, Caroline Van Cauwenbergh, Allen C. Ho, u. a. „Intravitreal antisense oligonucleotide sepiofarsen in Leber congenital amaurosis type 10: a phase 1b/2 trial“. *Nature Medicine* 28, Nr. 5 (2022): 1014–21. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01755-w>.
67. De Silva, Samantha R., und Anthony T. Moore. „Optogenetic approaches to therapy for inherited retinal degenerations“. *The Journal of Physiology* 600, Nr. 21 (1. November 2022): 4623–32. <https://doi.org/10.1113/JP282076>.
68. McClements, Michelle E., Federica Staurengi, Robert E. MacLaren, und Jasmina Cehajic-Kapetanovic. „Optogenetic Gene Therapy for the Degenerate Retina: Recent Advances“. *Frontiers in Neuroscience* 14 (2020): 570909. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.570909>.
69. Pan, Zhuo-Hua, Qi Lu, Anding Bi, Alexander M. Dizhoor, und Gary W. Abrams. „Optogenetic Approaches to Restoring Vision“. *Annual Review of Vision Science* 1 (24. November 2015): 185–210. <https://doi.org/10.1146/annurev-vision-082114-035532>.
70. Boyer, David S, Lance Bergstrom, Andres Emanuelli, Victor H Gonzalez, Charles Clifton Wykoff, Sunil Gupta, David S Liao, u. a. „Efficacy and safety of MCO-010 optogenetic therapy for vision restoration in patients with severe vision loss due to retinitis pigmentosa: A phase 2b randomized, sham-controlled, multi-center, multi-dose, double-masked clinical trial (RESTORE)“. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 64, Nr. 8 (1. Juni 2023): 5443.

71. Antas, Pedro, Cláudia Carvalho, Joaquim Cabral-Teixeira, Luísa de Lemos, und Miguel C. Seabra. „Toward Low-Cost Gene Therapy: mRNA-Based Therapeutics for Treatment of Inherited Retinal Diseases“. *Trends in Molecular Medicine* 30, Nr. 2 (Februar 2024): 136–46. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2023.11.009>.
72. L'Abbate, Dario, Kia Prescott, Brendan Geraghty, Victoria R. Kearns, und David H. W. Steel. „Biomechanical considerations for optimising subretinal injections“. *Survey of Ophthalmology* 69, Nr. 5 (1. September 2024): 722–32. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2024.05.004>.