

Генная терапия.  
Генетические  
наследственные  
заболевания

Генотерапия -совокупность генноинженерных (биотехнологических) и медицинских методов, направленных на внесение изменений в генетический аппарат соматических клеток человека в целях лечения заболеваний.



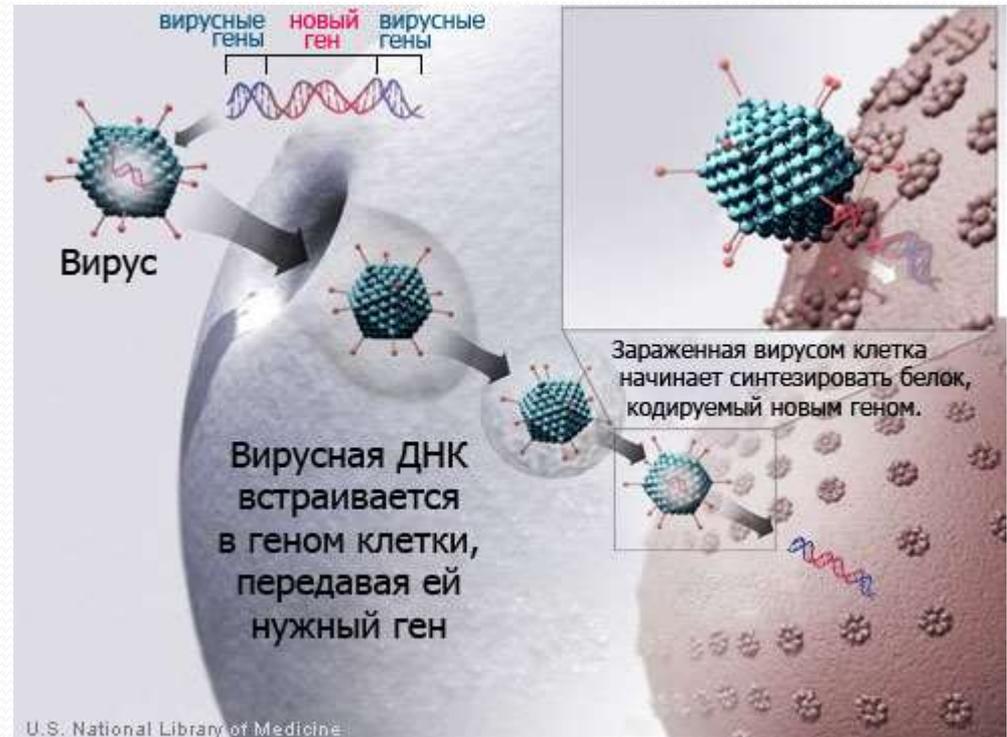
- Первые попытки генотерапии – 1989
- Первая одобренная методика генотерапии – 2004
- По-прежнему экспериментальная область медицины на начальной стадии развития

# Применение генотерапии

1. Наследственные моногенные заболевания
2. Инфекционные – ВИЧ
3. Онкологические
4. Другие приобретенные заболевания:
  - ревматоидный артрит
  - сердечно-сосудистые заболевания
  - нейродегенеративные заболевания

# Процесс генотерапии

1. Для лечения выбирается и синтезируется «терапевтический» ген (полезная нагрузка) со вспомогательными последовательностями ДНК
2. ДНК вставляется в вектор, осуществляющий её перенос
3. С помощью вектора ДНК переносится в клетки пациента
4. В клетке функционирует исправленный вариант гена, который передается дочерним клеткам при делении



# Виды генотерапии

- Соматическая генотерапия – терапия соматических клеток пациента, подвергшихся заболеванию. Не передается по наследству.
- Фетальная (пренатальная) генотерапия (in utero) терапия плода.
- Генотерапия половых клеток (гамет) родителей. Передается по наследству. Не применяется у людей.

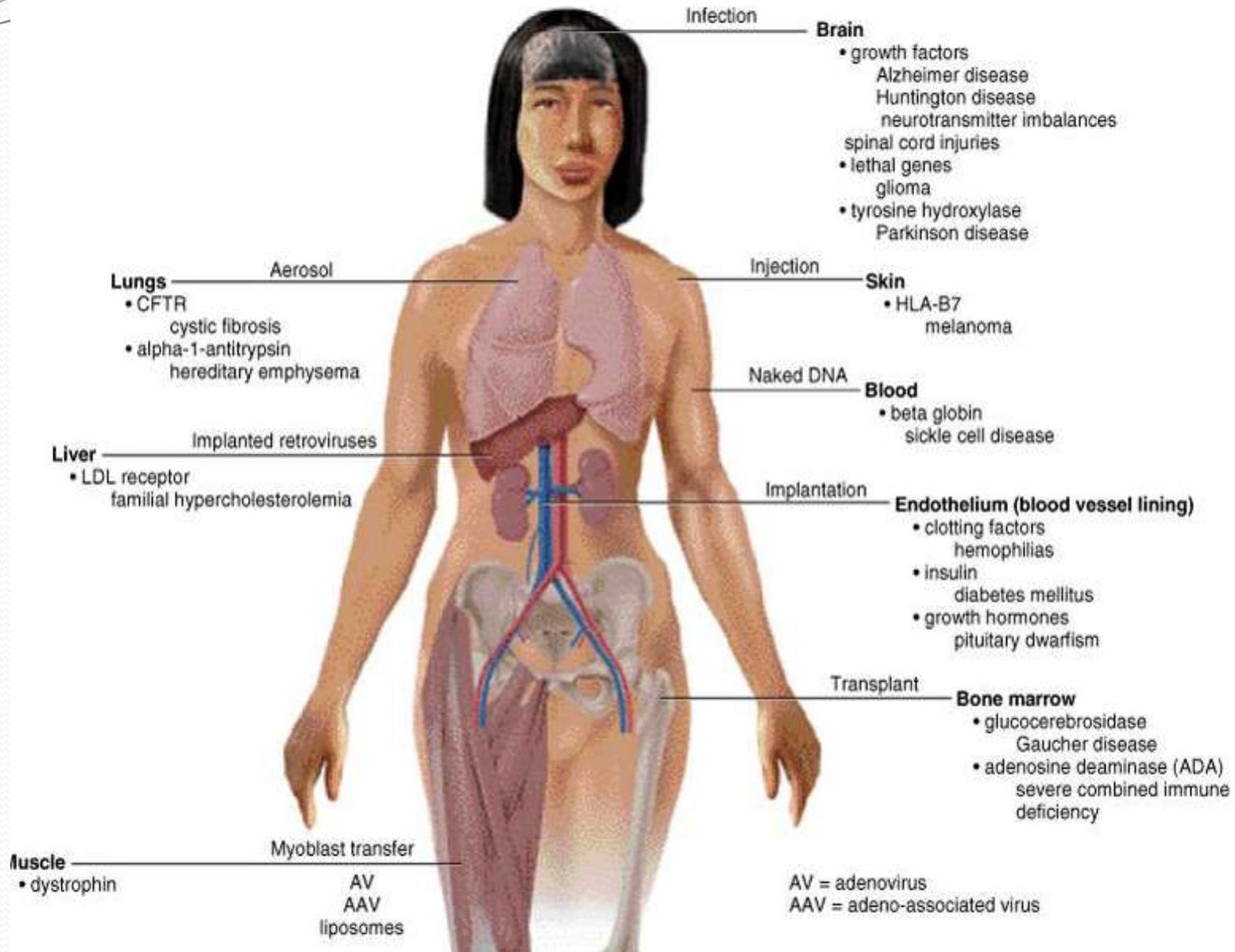


# Подходы к генотерапии

- *ex vivo*-клетки извлекаются из организма, подвергаются лечению, а затем возвращаются в организм
- *in situ* -вектор со «здоровой» ДНК инъецируется локально в больные ткани
- *in vivo*-вектор со «здоровой» ДНК инъецируется в кровотоки

# Мишени для генотерапии

Эндотелий	Может секретировать терапевтический белок в кровоток. Пример: фактор свертывания при гемофилии.
Кожный эпителий	Можно использовать маленький кусок кожи для выращивания большого трансплантата. Способен секретировать терапевтический белок.
Мышечная ткань	Пример: лечение миодистрофия Дюшенна
Печень	Способность к регенерации. Пример: лечение семейной гиперхолестеринемии.
Легкие	Пример: лечение муковисцидоза аэрозолем
Нервная ткань	Не делятся. Пример: генотерапия фибробластов для синтеза нейротрансмиттеров
Раковые опухоли	Около половины типов мишеней для генотерапии <ul style="list-style-type: none"><li>• Suicide gene therapy</li><li>• Вакцины, облегчающие узнавание иммунной системой</li></ul>



# Проблемы генотерапии

1. Зачастую непродолжительный эффект (из-за нестабильности терапевтической ДНК, быстрого размножения клеток)
2. Риск иммунного ответа
3. Вирусы могут вызывать побочные эффекты (токсичность, иммунный ответ, онкология, возврат к патогенности)
4. ДНК может передаваться в половые клетки
5. Мультигенные заболевания

# Генетические наследственные заболевания

1. Полигенные – за развитие отвечает большое количество генов. Невысокая пенетрантность мутаций ( $\ll 100\%$ ).

- – сердечно-сосудистые
- – онкологические
- – диабет
- – алкоголизм
- – шизофрения

- 2. Моногенные – за развитие заболевания отвечает один дефектный ген. Высокая пенетрантность мутаций (до 100%). Известно более 3,000 моногенных заболеваний – основных кандидатов на лечение при помощи генной терапии.

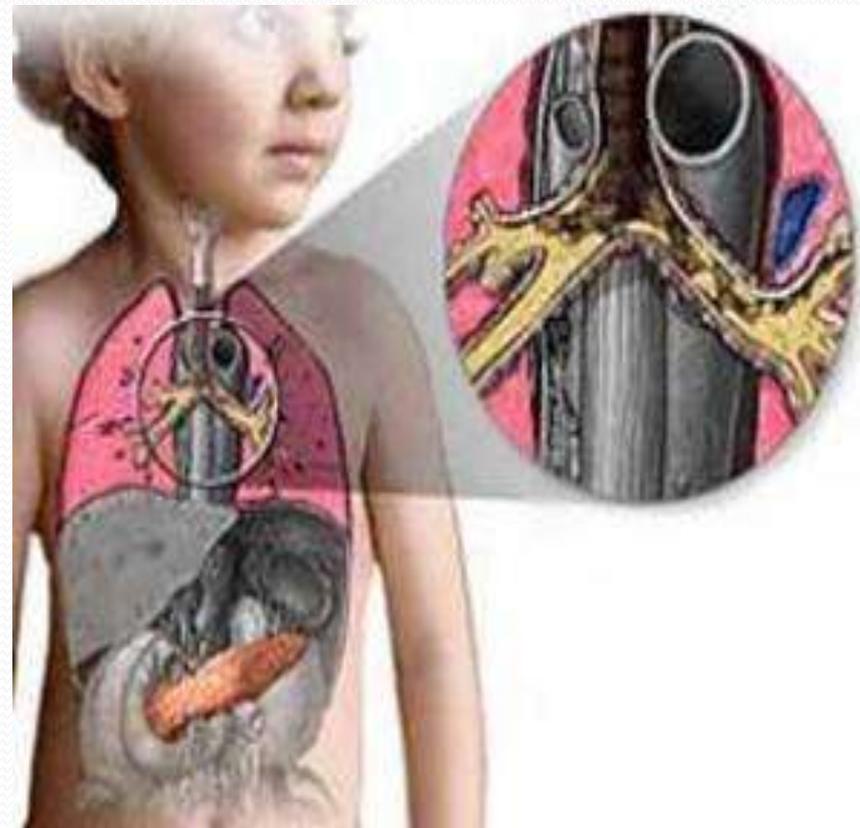
- – муковисцидоз
- – болезнь Хантингтона
- – болезнь Тея-Сакса
- – серповидноклеточная анемия
- – фенилкетонурия

# Подход к исправлению генов

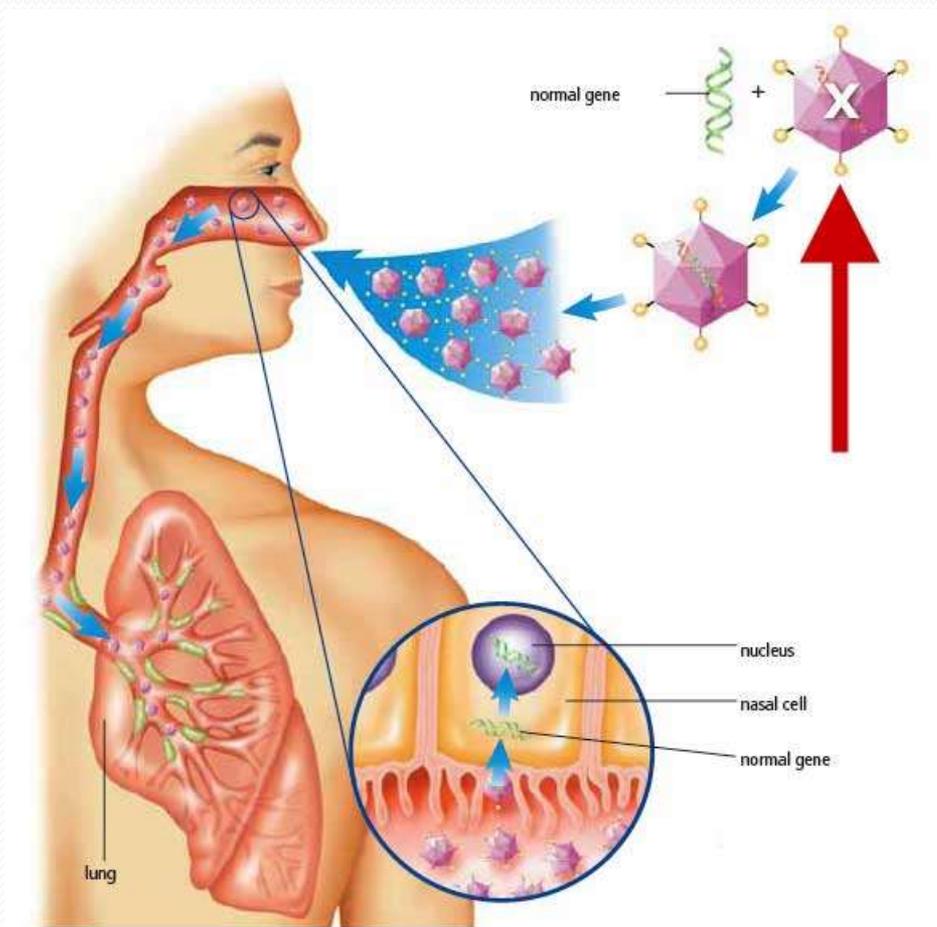
- Вставка нормальной копии гена в геном в неспецифической позиции
- Замена мутантного гена на нормальный при помощи гомологичной рекомбинации
- Репарация при помощи селективной обратной мутации
- Усиление экспрессии гена
- Блокировка экспрессии гена

# Муковисцидоз

Возникает при наличии 2 дефектных копий гена *cystic fibrosis transmembrane conductance (CFTR)*. В норме осуществляет транспорт ионов хлора через клеточную мембрану. Если клетка не может выводить ионы хлора, она поглощает воду, чтобы снизить их концентрацию. Это приводит к образованию плотной клейкой слизи в бронхах, поджелудочной железе, кишечнике, а также на других слизистых. Вся существующая терапия носит симптоматический характер.



# Генотерапия муковисцидоза



- Распыление в дыхательные пути специальных векторов с «нормальной» ДНК
- Требуется постоянное применение
- Не доказана эффективность

# Тея - Сакс

Вызывается мутацией гена HEXA, ответственного за синтез фермента гексоаминидазы А — фермента, принимающего участие в метаболизме ганглиозидов. В результате, ганглиозиды накапливаются в нервных клетках, нарушая их работу. Наследуется по аутосомно-рецессивному типу наследования. Это значит, что вероятность рождения больного ребёнка существует только, если оба родителя являются носителями мутантного гена, и составляет 25 %.



# Генотерапия Тея - Сакса

- Использование вирусного вектора, активизация инфекции в качестве средства введения нового генетического материала в клетки, было предложено в качестве техники лечения генетических заболеваний в целом. Трансплантация стволовых гемопоэтических клеток (ТГСК), вид генной терапии, при котором используются клетки, которые еще не дифференцированы и могут превращаться в специфические, соответствующие по структуре и функции клетки также не выявила эффективности в лечении. Еще один подход генотерапии заключается в применении стволовых клеток из пуповинной крови для того, чтобы заменить дефектный ген. Хотя этот подход эффективный для болезни Краббе, однако никаких положительных результатов для БТС не было зарегистрировано.

## Molecular diagnosis: new prospects opened up by genomics and proteomics

### Genomics

DNA

What information is stored in a biological system?

**SNPs**  
single nucleotide polymorphisms

Predisposition

Small changes in a person's DNA (SNPs = Single Nucleotide Polymorphisms) can predict the onset of disease

Patient stratification

How effectively will a particular drug be metabolised?

Target

versus

**DSPs**  
disease-specific proteins

What proteins are present in 'health', and what ones are present in 'disease'?

### Proteomics

Proteins

What pieces of stored information are being expressed at a given point in time?

# A tool for genetic diagnostics: the PCR

An one technique used for detecting DNA segments is the polymerase chain reaction, or PCR.

The PCR is used to make any desired number of copies of specific DNA segments. This is also an important prerequisite for DNA analysis on the AmpliChip CYP 450. Since its invention in 1982, the PCR has been a major factor in the rise of biotechnology. No genetics laboratory could do without it, and genome sequencing projects, of which there are many, would be inconceivable without it. It has even revolutionised forensic science with the introduction of genetic fingerprinting, which is based on the PCR. In medical science the technique forms the basis of nearly all genetic investigations:

## The first pharmacogenomic product: AmpliChip CYP450



The AmpliChip CYP450 test, which was launched in Europe in 2004, was the first commercially available pharmacogenomic product. (Pharmacogenomics describes how the effects of drugs depend on a patient's genome.) The AmpliChip can distinguish between the most important variants of two genes involved in the breakdown of many drugs, enabling doctors to determine the right dosage of a drug for a given patient even before the treatment is started.



The PCR is also important in drug development. Every biotech drug has to undergo several development phases in which the PCR is required. To manufacture a therapeutic protein, for example, it is first necessary to identify the corresponding gene in the human genome – an extremely difficult task without the PCR. The gene is then transferred to a special cell line, and this step too requires DNA ‘amplification’ with the PCR to determine if the gene was successfully inserted.



In most genetic testing the PCR is needed to make copies of a patient's DNA so that enough of it is available to be analysed by other methods. In this way, patients can be tested for susceptibility to a certain hereditary disease, for example. Prenatal and preimplantation diagnostic tests also make use of the same process. And finally, the PCR can be used to quickly and accurately detect SNPs and other medically relevant genetic variations. Molecular diagnostic tests at the DNA level will continue to rely on the PCR as an essential tool for the foreseeable future.