

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОМЕДИЦИНА

Часть 1

Учебное пособие для вузов

Воронеж
Издательский дом ВГУ
2014

СОДЕРЖАНИЕ

Генная терапия	4
Введение	4
Принципы генной терапии.....	9
Классификация методов генной терапии	10
Контроль исследований в области генной терапии человека	32
Примеры лечения заболеваний методами генной терапии	39
Возможности и перспективы применения методов генной терапии в медицине	42
Лекарства на основе нуклеиновых кислот	48
Современное состояние генной терапии.....	54
Стволовые клетки	59
Стволовые клетки и их характеристика	59
Основные группы стволовых клеток	62
Потентность стволовых клеток	63
Эмбриональные стволовые клетки	63
Фетальные стволовые клетки	70
Гемопоэтические стволовые клетки	71
Мезенхимальные стволовые клетки и стимуляция роста опухолей....	80
Перспективы применения стволовых клеток.....	86
Список литературы	89

сознательно генерируются у животных (с использованием технологии переноса генов), что позволяет анализировать биохимические и физиологические аспекты заболевания и анализировать эффективность действия новых лекарств. Многие из методов генной терапии и используемых при моделировании болезней основаны на одних и тех же принципах, хотя и применяются с разными целями. Некоторые модели болезни можно получать с использованием нуклеиновых кислот и белков, подавляющих экспрессию генов или белковую активность.

После того как были установлены молекулярные основы трансформации бактерий (переноса генов из одного штамма в другой), у ученых появилась надежда, что аналогичный механизм – введение нормальных генов в дефектные соматические клетки – можно будет использовать для лечения наследственных заболеваний человека. Перспективы генной коррекции соматических клеток стали более реальными в 1980-х годах; к этому времени были разработаны методы получения изолированных генов, созданы эукариотические экспрессирующие векторы, стали рутинными эксперименты по переносу генов на мышах. В 1990 г. была предпринята первая попытка применения генотерапии для лечения SCID (табл. 1) у двух девочек (*National Institute of Health (NIH), Bethesda, USA*). Как известно, к гибели В- и Т-лимфоцитов и развитию тяжелого иммунодефицита приводит токсическое действие аденозина и дезоксиаденозина, уровень которых в крови повышается при дефекте аденозиндезаминазы (АДА). Для терапии использовался следующий подход. Клонированную кДНК АДА ввели в лимфоциты, полученные от каждой из пациенток. Введение нуклеиновой кислоты осуществляли с помощью ретровирусного вектора. Модифицированные клетки, синтезирующие АДА, культивировали и в течение двух лет с определенной периодичностью вводили девочкам. Через четыре года после начала лечения у обеих пациенток наблюдалась экспрессия гена АДА и отмечалось облегчение симптомов SCID. Однако истинная причина улучшения осталась не совсем ясной: был ли это эффект заместительной терапии (внутривенного введения защищенной формы АДА – полиэтиленгликоль-АДА) или собственно генной терапии. Бесспорно одно: этот опыт показал безопасность генной терапии. Сходные результаты были получены и для других пациентов с SCID, одновременно получавших оба вида лечения. Исследования были продолжены на большем числе больных.

Таблица 1

Применяемые в настоящее время методы лечения некоторых моногенных заболеваний человека

Генный продукт	Заболевание и его симптомы	Частота встречаемости	Лечение	Прогноз
Аденозиндезаминаза	Тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID) Утрата Т- и В-лимфоцитов	1 : 1 000 000	Трансплантация костного мозга; введение аденозиндезаминазы	Без лечения: летальный исход к двум годам. С лечением: улучшение состояния пациента
Рецептор липопротеинов низкой плотности	Семейная гиперхолестеролемия Повышенный уровень холестерина в крови, ишемическая болезнь сердца	1 : 500 (гетерозиготы)	Диета, медикаментозное лечение, трансплантация печени	Улучшение состояния пациента
Глюкоцереброзидаза	Болезнь Гоше Накопление глюкоцереброзидов в макрофагах, приводящее к поражению печени, селезенки и костей	1 : 2500 (среди евреев); редко у неевреев	Симптоматическое лечение: удаление селезенки, введение антибиотиков, лечение поражений костей, трансплантация костного мозга, введение глюкоцереброзидазы	Улучшение состояния пациента
Фактор VIII системы свертывания крови	Гемофилия А Изменение фактора VIII, приводившее к нарушению свертываемости крови, хронические кровоизлияния в суставы; обширные кровотечения при травмах	1 : 10 000 (у мужчин)	Повышение концентрации фактора VIII (в частности, с помощью переливания плазмы)	Увеличение продолжительности жизни при постоянном лечении; при переливании есть риск вирусной инфекции
Фенилаланин-гидроксилаза	Фенилкетонурия Избыток фенилаланина в крови новорожденных, умственная отсталость	1 : 10 000	Диета, исключаящая фенилаланин	При ранней диагностике и непрерывном лечении – обычно благоприятный

α_1 – Антитрипсин	Эмфизема Дефицит ингибитора сывороточных протеаз, поражение легких, цирроз печени	1 : 3500	Заместительная терапия; снижение экологических факторов риска	Заболевание прогрессирует медленнее
Трансмембранный белок, нарушения в котором приводят к муковисцидозу	Муковисцидоз Системное поражение органов, в ряде случаев недостаточность поджелудочной железы, закупорка кишечника, закупорка бронхов	1 : 2500 (европеоиды)	Введение антибиотиков, физикальная очистка легких, общеукрепляющая диета	Летальный исход в возрасте до 20 лет
Орнитин-транскарбамилаза	Гипераммониемия Нарушение цикла мочевины, накопление аммония, дефицит аргинина Ранняя форма, развивающаяся в первые 72 ч после рождения: летаргия, рвота, кома, смерть; в случае выживания – необратимое повреждение мозга. Поздняя форма: рвота, летаргия, эпилептические припадки	1 : 40 000	Диета с ограничением белка, диета, обогащенная аргинином, лекарственные средства, трансплантация печени	Поздняя форма: благоприятный Ранняя (тяжелая) форма: снижение тяжести симптомов
Дистрофин	Мышечная дистрофия Дюшенна Прогрессирующая слабость мышц	1 : 7500 (у мужчин)	Только поддерживающее лечение; полноценное питание, помощь в функционировании дыхательной системы, передвижение в инвалидной коляске	Летальный исход к 20 годам
β -Глобин	Серповидноклеточная анемия Хроническая анемия, системное поражение органов, селезенки, сердца, почек, печени, мозга; у гетерозиготных носителей наблюдается мягкая форма болезни	1:500 (для гетерозигот в популяциях афроамериканцев; в других популяциях – реже)	Переливание крови, медикаментозная терапия, анальгетики, трансплантация костного мозга	Снижение тяжести симптомов; эффективное лечение отсутствует