ГЕНОМ ЛЮДИНИ ТА МЕТОДИ ЙОГО ВИВЧЕННЯ
ЛЕКЦІЯ 7

Тема: Лікування генетичних захворювань

План:
1. Дієтотерапія
2. Білкова замісна терапія
3. Клітинна та тканинна замісна терапія
4. Генна терапія

Різні способи лікування застосовуються практично до всіх генетичних захворювань, проте більшість з них – це лише невелике поліпшення самопочуття та боротьба з наслідками чи з клінічними проявами.

1. Дієтотерапія

Генетичних захворювань за яких можна досягнути практичного нормального здоров'я та самопочуття пацієнта використовуючи спеціальну дієту зовсім невелика кількість.

Найбільш яскравим прикладом є фенілкетонурія. Якщо своєчасно (одразу після народження) обмежити споживання фенілаланіну та притримуватись такої дієти починаючи від народження і до підліткового віку (іноді все життя), то можна зберегти розумові здібності на нормальному рівні. Без такої дієти спостерігається розумова неповноцінність різного ступеню вираженості.

Вроджена гіперплазія кори наднирників немає жодних несприятливих наслідків, якщо хворий кожен день вживає синтетичний тироїдний гормон.

Видалення з раціону галактози попереджує розвиток симптомів галактоземії.

Обмеження споживання заліза, що супроводжується іноді флеботомією, дозволяє контролювати перебіг гемохроматоза.

Ретельний контроль споживання жиру підвищує сподівання на позитивний прогноз у хворих родинною гіперхолестиринемією.

Дуже яскравим прикладом дієтотерапії є випадок розробки дієтотерапії для лікування хворих зчепленою з Х-хромосомою адренолейкодистрофії (Х-АЛД). Це захворювання супроводжується порушеннями накопичення жирів. Жирні кислоти з дуже довгими ланцюгами накопичуються переважно у клітинах головного мозку та наднирниках, що призводить до недостатності цих органів та до загибелі. Тяжкість захворювання сильно варіює в залежності від віку коли вона починає проявлятись. Проте хлопчики які згодом захворіють до 4 річного віку не виявляють жодних симптомів цього захворювання. Воно зустрічається з частотою 1 хворий на 20 000 хлопчиків.

Дієта для лікування цього захворювання була створена батьками одного з хлопчиків. Коли хлопчик (Лоренцо Одоне) захворів йому було 5 років і лікарі

сказали батькам, що протягом двох років їх син помре. Проте, батьки почали інтенсивно вивчати відповідні аспекти біохімії та неврології і розробили дієту на основі оливкового та рапсового масла.

За цієї дієти їх син відчув значне покращення. Про цей випадок було знято фільм «Масло Лоренцо» якого було номіновано на премію «Оскар» у трьох номінаціях у 1993 році.

Але все ж таки стан здоров'я хлопця згодом таки погіршився і хоча він і залишився живим до віку 28 років його повністю паралізовало, він осліп та оглух, проте все ще мав змогу спілкуватись рухаючи пальцями та повіками.

Зараз дослідники дійшли висновку, що ця масляна дієта найбільш дієва якщо почати її застосовувати ще до появи симптомів захворювання. Новітні дослідження показали що до двох третин хлопчиків, що мають цю мутацію залишаться нормальними за цієї дієти. Дослідження тривають.

2. Білкова замісна терапія

Багато генетичних порушень призводить до захворювання через відсутність важливих білків або через втрату ними функцій. В наш час майже будь-який білок можна отримати біотехнологічно за рахунок різних організмів. Саме тому стоїть проблема не в отриманні білка, а в методах його транспортування до місця дії білка та в кількостях, які б задовільняли потреби організму. Більшість білків – це внутришньоклітинні субстанції. Якщо такий рекомбінований білок ввести у кров за допомогою ін'єкції, то існує велика вірогідність швидкового руйнування його протеазами, а повторні ін'єкції можуть викликати імунну відповідь, яка може навіть мати летальний ефект.

Навіть якщо білок не буде зруйновано у кров'яному руслі і його захопить клітина-мішень, то зазвичай він одразу потрапляє у лізосому, де його буде зруйновано. Проте і самі лізосомні ферменти також можуть зазнавати впливу генетичних порушень. Існує ціла низка захворювань пов'язаних з відсутність одного з ферментів деградації, які в нормі функціонують у лізосомах. Молекули, які повинні бути зруйнованими у лізосомах залишаються неушкодженими та накопичуються у лізосомах. В результаті такого накопичення лізосоми збільшуються в розмірах та врешті решт клітина гине. Тяжкість прояву такого ефекту дуже варіює в залежності від типу клітин та залежить від природи пошкодженого ферменту. Для деяких захворювань були розроблені ефективні способи замісної терапії таких лізосомних захворювань.

Хвороба Гоше приклад типового лізосомного захворювання що викликана відсутністю ферменту – глюкоцереброзидази. Це аутосно-рецесивне захворювання і гетерозиготі є нормальними за фенотипом. Незважаючи на те, що цей фермент експресується у багатьох типах клітин за розвиток захворювання відповідають макрофаги. Пошкоджені та мертві макрофаги викликають збільшення печінки та селезінки, виникає також ушкодження кістяного мозку, що супроводжується анемією та дефіцитом тромбоцитів. Однак, при лікуванні потрібно постійно (два рази на тиждень)

робити ін'єкції ферменту і коштує таке лікування більш ніж 50 000 доларів США на рік.

Замісна білкова терапія також ефективна у випадках коли порушений чи відсутній білок є нормальним компонентом крові. Така терапія застосовується при різних типах гемофілії. Потрібно тільки точно визначити який з ферментів з тих що складають каскад згортання крові був ушкоджений.

3. Клітинна та тканинна замісна терапія

Деякі генетичні захворювання можна лікувати шляхом заміни клітин або органів, що не функціонують нормально. Найстаршою такою технологією є пересадка (трансплантація) органів. Проте тут існує дві великі проблеми: чужий орган може почати відторгатись, та підбор донорів, органів для пересадки завжди менше, ніж пацієнтів що їх потребують. Були спроби пересаджувати органи тварин/, проте не дуже вдалі. Зараз ведуться роботи у двох напрямках: генетична модифікація тварин для більшої відповідності їх органів людському організму та розробка технологій вирощування органів зі стволових клітин самого пацієнта.

4.Генна терапія

Генна терапія – це введення генів в організм людини з метою виправлення генетичного дефекту або уповільнення розвитку генетичного захворювання. У більшості випадків генна терапія спрямована на заміщення функцій, які змінені внаслідок мутації у специфічних генетичних локусах. Вона найбільш прийнятна при лікуванні рецесивних генетичних захворювань при яких присутність мутантного алелю не впливає на діяльність нормальних копій цього гену. Розроблені також протоколи генної терапії для лікування деяких форм рака, коли ставиться мета ввести в клітини пухлин такі гени, що викликали б загибель клітин природним механізмом (апоптоз) або у відповідь на певний сигнал.

Гени, що штучно переносяться у організм мають назву – трансгени. У більшості спроб генної терапії у якості векторів для доставки трансгенів використовують модифіковані віруси. На основі вірусів розроблено кілька типів векторів. Найчастіше, втім, використовують ретровірусі, генетичним матеріалом яких є РНК, яка в клітині хазяїна транскрибується у дволанцюгову ДНК і у такому стані вбудовується у геном хазяїна.

Геноми простих ретровірусів містять три гени. Ген gag кодує білки, молекули яких приєднуються до вірусного геному з утворенням нуклеопротеїнової кори вірусу; ген pol кодує зворотню транскриптазу та інтегразу, а ген env кодує білки які утворюють зовнішню вірусну оболонку, яка є вирішальним чинників в клітину якого господаря може потрапити вірус. Відносно легко створити вектор для переносу генів шляхом видалення всіх білок-кодуючих генів та замінити їх геном (чи генами) які потрібно вбудувати. Проте, для того щоб забезпечити перенос генів ця модифікована ДНК повинна

бути оточена нормальними вірусними білками, яких в самому векторі немає. Ці білки можна отримати при одночасному інфекуванні клітин допоміжним вірусом, який має гени вірусних білків, але не здатний внаслідок генної модифікації утворювати інфекційні вірусні часточки.

Багато векторів переносу сконструйовано на основі простого ретровірусу – вірусу мишачої лейкемії Молоні. Однак одним з недоліків простих ретровірусів є їх нездатність проникати у клітини, які не знаходяться в стані поділу. Але існують складні ретровіруси, що здатні крізь ядрові пори потрапляти у ядро клітин які не знаходяться в стані поділу. Їх називають лентивірусами (до цього класу належить і ВІЛ). До того ж лентивіруси здатні нести більше генів, ніж прості ретровіруси.

Для створення векторів для генної терапії використовують також ДНК-вмисні віруси – здебільшого аденовіруси та аденоассоційовані віруси. Ці аденоассоційовані віруси в клітинах людині здатні вбудовуватись у специфічний сайт на хромосомі 19, який підходить до генної терапії, бо забезпечує експресію трансгена постійно. Геном аденовірусу не вбудовується в геном людини. Він лише реплікується та танскрибується в ядрі зараженої клітини. Аденовіруси викликають лізис клітин хазяїна, що робить їх перспективними агентами для знищення ракових клітин. Було створено спеціальні штами аденовірусів, що розмножуються переважно в клітинах пухлин. Додатково до їх власного (прямого) цитоцидного впливу вони викликають протипухлинну відповідь імунної системи хазяїна (подвійний удар).

Активно досліджуються методи невірусної доставки трансгенів. Найпростішим з них є метод внутрим'язової ін'єкції плазмідною ДНК. При цьому значна частина м'язових клітин поглинає ДНК та продукує її білок кілька тижнів. Інші дослідники вивчають техніку електропорації. Під впливом імпульсів електричного струму в клітинних мембранах таких тканин, як шкіра та м'язи, тимчасово утворюються отвори крізь які проникає ДНК. Досліджують також багаточисленні техніки обгорнення ДНК ліпідами або іншими полімерами для полегшення їх проникнення в клітини та ядро.

В усьому світі наразі вже розроблено чи знаходиться на завершальній стадії розробка більш ніж 400 різних методів генної терапії. Найчастіше клінічні випробування здійснюють на ракових хворих останніх стадій. Для багатьох рецесивних захворювань вже апробуються різні методики, проте жодного виліковування чи, навіть, довготривалого полегшення наразі зафіксовано не було.

У випадку з домінантними захворюваннями стоїть задача не замінити ген чи додати його, а, навпаки, вимкнути чи знищити. Це питання ще більш складне, бо прицільно знищувати гени в геномі ми поки не вміємо.