

Міністерство освіти і науки України
Житомирський державний університет імені Івана Франка
Інститут зоології НАН України
Інститут гідробіології НАН України
Українське наукове товариство паразитологів
Гідроекологічне товариство України
Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка
Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ
БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2015

Житомир - 2015

видами раку може успадковуватися, причому для різних пухлин спадковість має різне значення. Знання спадкових факторів, що можуть спричинити лейкоз, має важливе клінічне значення. При медико-генетичних консультаціях центрів планування сім'ї та репродукції людини стане можливим попередження подружньої пари про можливість розвитку цієї хвороби у нащадків, ретельний огляд і подальше спостереження над людьми, що знаходяться в групі ризику, проведення клініко-генеалогічного аналізу серед населення, масового генетичного скринінгу і в результаті виявлення носіїв генів, що здатні спричинити лейкоз.

Література

1. Давиденкова Е. Ф. Клиника и генетика лейкозов / Е. Ф. Давиденкова, С. И. Шерман, Н. Н. Колосова – Ленинград: «Медицина», 1973 – с.173
2. Патогенез, лечение и эпидемиология лейкозов Материалы Всесоюзного симпозиума по проблеме лейкозов Рига, 23-25 марта 1971 г. – с.382
3. Моисеев С. И. Современные принципы диагностики и лечения острых лейкозов / С. И. Моисеев – Санкт-Петербург, 2004 – с.57
4. Peter H. Wiernik Neoplastic diseases of the blood Fourth Edition / Peter H. Wiernik, John M. Goldman, Janice P. Dutcher, Robert A. Kyle – Cambridge University Press, 2003 – с.1196
5. Акцент ком [Електронний ресурс] Режим доступу <http://aktsent.com.ua/health/1255-heredity-is-important-to-monitor.html>
6. Попередження онкологічних захворювань [Електронний ресурс] Режим доступу <http://www.unicef.org/ukraine/ukr/onko.pdf>
7. Захворювання на онкологію, спадковість і ризик появи раку [Електронний ресурс] Режим доступу http://zpitanie.at.ua/news/onkologija_zakhvorjuvannja_i_zcilennja_raku_spadkovist_i_rizik_pojavi_raku/2011-07-25-173

СЕКЦІЯ 10. КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

УДК 616-072.7:616.36:616.13-004.6-001.5

ГЕННА ТЕРАПІЯ АТЕРОСКЛЕРОЗУ

А. В. Білошицька, В. М. Истошин

Вінницький Національний Медичний Університет ім. М. І. Пирогова, кафедра медичної біології, вул. Пирогова 56, Вінниця, Україна, 21018

За останні роки розробляються нові методи лікування атеросклерозу і великий інтерес викликає генна терапія. Цей метод розглядає введення до організму (за допомогою вірусних, клітинних або інших векторів) тих чи інших генів, які експресують білки, що впливають на обмін ліпідів. Найчастіше це гени аполіпопротеїнів та β -ЛП-Р, так як всі вони вже картовані та клоновані [3, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18, 19]. На сьогоднішній день генна терапія атеросклерозу

знаходиться на етапі експериментальних досліджень [2, 16]. Дослідниками було показано, що після трансплантації генної конструкції в організмі спостерігається короткочасне зниження рівня загального ХС сироватки та значне зменшення площі та інтенсивності атеросклеротичного враження аорти. Всі досліді в повідомленнях мають позитивний результат, що свідчить про велику перспективу методу [2, 16].

Загалом, генна терапія – це сукупність генно-інженерних (біотехнологічних) та медичних методів, що спрямовані на внесення змін до генетичного апарату соматичних, статевих або ембріональних клітин людини з метою лікування спадкових та набутих захворювань. Генна терапія соматичних клітин людини – корекція специфічного спадкового захворювання шляхом введення в дефектну соматичну клітину-мішень функціонального гена, здатного до експресії. Перспективи генної корекції соматичних клітин стали реальними у 80-х роках минулого сторіччя. Тоді ж були розроблені методи отримання ізольованих генів, створені еукаріотичні експресуючі вектори, стали можливими експерименти з переносу генів на мишах та інших піддослідних тваринах. Після того як були встановлені молекулярні основи трансформації ДНК бактерій (перенесення генів з одного штаму в інший), з'явилася надія, що аналогічний механізм – введення нормальних генів в дефектні соматичні клітини – може буде використаний для лікування спадкових захворювань людини [2, 5, 6].

Підходи, що застосовуються в генній терапії можна розділити на дві суттєво відмінні категорії, відомі як генна терапія *ex vivo* та генна терапія *in vivo*.

Генна терапія *in vivo* передбачає доставку «терапевтичного» гена безпосередньо в клітини певної тканини пацієнта. З цією метою клонується «терапевтичний» ген, що кодує синтез протеїну, який корегує спадкове захворювання, спричинене генетичним дефектом. Клонований ген доставляється до клітин певної тканини пацієнта (або експериментальної тварини) і в них експресується. Оскільки генетична конструкція вводиться в організм і досягає всіх клітин, важливо, щоб промотор, під контролем якого здійснюється транскрипція, мав високу тканинну специфічність і забезпечував експресію «терапевтичного» гена лише в певній тканині.

Надзвичайно важливою проблемою генної терапії є вибір способу доставки терапевтичного гена до тканини-мішені. Ідеальна система доставки «терапевтичного» гена повинна забезпечувати: високу ефективність цільового поглинання «терапевтичного» гена клітинами-мішенями; мінімальне його внутрішньоклітинне руйнування під час транспорту в ядро; високий рівень експресії, який забезпечить лікувальний ефект; відсутність перебудов і мутацій; відсутність імуногенності продукту експресії.

Максимальний розмір ДНК-вставки, яку може переносити ретровірусний вектор, складає 8 послідовностей нуклеотидів (п.н.). Однак ефективність її доставки в ядро і подальшої інтеграції в геном клітини-господаря є дуже низькою [2, 5, 6]. Встановлено, що ретровіруси активно інфікують клітини, що перебувають в синтетичному періоді інтерфази.. Суттєвим недоліком

застосування ретровірусів є їх здатність викликати злоякісну трансформацію клітин, тому необхідно передбачити зменшення або повністю виключення такої можливості [4, 5].

Невірусні системи доставки терапевтичних генів в клітини включають фізичні та хімічні методи. До фізичних методів належать: мікроін'єкції, ін'єкція струменем, заморожування-відтаювання, біобалістика (бомбардування клітин краплями рідини або суспензією часточок золота з адсорбованою плазмідною). Хімічні методи ґрунтуються на використанні солей деяких катіонів (наприклад кальцію), полілізину, ліпосом, тощо [4, 5].

Takis Athanassopoulos [16] розроблене пряме введення ДНК-конструкції в клітини-мішені шляхом ін'єкцій є самим простим методом доставки трансгена (гена, що переноситься) в клітини *in vivo*, за якого ДНК вводиться безпосередньо в тканину шляхом ін'єкції. Застосування даного методу поки що обмежується такими тканинами як шкіра, тимус, поперечно-смугасті м'язи, деякі солідні (ті, що ростуть щільним вузлом) пухлини. Для здійснення прямого введення потрібні великі кількості ДНК. Досить тривала (до року) експресія трансгена спостерігається переважно в м'язовій тканині [17]. Ефективність такого способу трансфекції зазвичай низька (складає менше 1%), але достатня, наприклад, для генетичної імунізації. Існують методи прямого внесення генів у тканини через кровоносні судини, що проходять крізь орган, який необхідно трансфікувати (зокрема при лікуванні хвороб печінки), та методи прямої ін'єкції у ниркову паренхіму та у тканину сечовивідних шляхів. Аерозольне введення генетичного матеріалу в клітини дихальних шляхів використовується при лікуванні захворювань легень [1, 2, 6, 8, 9].

Перспективним способом прямого введення ДНК-конструкції в клітини-мішені є доставка генетичної конструкції в ліпосомах [2, 16]. Зокрема в катіонних ліпосомах з позитивним зарядом, негативно заряджена молекула ДНК утворює ДНК-ліпідний комплекс - ліпокомплекс. Переваги застосування таких комплексів, порівняно з вірусними векторами, полягають у здатності нести більший об'єм інформації, неможливості виникнення рекомбінацій та появи інфекційних властивостей. Конструкції мають нижчу вірогідність ініціації імунної відповіді або реакції запалення, вони простіші та дешевші у виготовленні. В 2003р. були створені надзвичайно малі - мілімікронні ліпосоми, покриті полімером поліетиленгліколем, що здатні переносити терапевтичну ДНК в нейрони головного мозку і через пори в ядро. До цього часу перенесення генів в нейрони головного мозку було неможливим через те, що вірусні вектори не здатні проходити гематоенцефалічний бар'єр.

В літературі наводяться дані про розробку експериментальних підходів, проведення доклінічних та клінічних випробувань методів генної терапії у лікуванні майже 30 моногенних хвороб людини, зокрема атеросклерозу [1].

Застосування генної терапії у лікуванні є достатньо складним процесом та включає ряд невирішених проблем. Широке використання вірусних генних конструкцій, як найбільш ефективних та таких, що дають швидкий ефект лікування, приводить до сильної імунної відповіді, непластичної трансформації

та знижує позитивний ефект генної терапії. На жаль, мало вивчені структурно-функціональні зміни клітин, тканин, органів та судин під дією генної терапії. Невирішені проблеми інтегрування терапевтичних генів у геном людини роблять необхідним проведення експериментальних досліджень з тваринами.

Незабаром, як вже повідомлялось Seppo Ylä-Herttuala [20] у продаж в Німеччині надійде перший препарат генної терапії «Glybera» для лікування рідкісного генетичного захворювання – дефіциту ліпопротеїніліпази.

Препарат Glybera є спільною розробкою голандської біотехнологічної компанії UniQure та італійської фірми Chiesi, яка на себе бере відповідальність за продаж препарату. Препарат буде компенсувати дефіцита фермента ліпопротеїніліпази, який регулює рівень ліпідів в крові.

Препарат Glybera отримав дозволи ще в 2012 році, очікується що уряд ФРН дасть остаточний дозвіл на продаж препарату у квітні 2015 року. Компанія виробник встановила роздрібну ціну в 53 тисячі євро за ампулу. Курс лікування для типового пацієнта буде становити приблизно 1,1 мільйона євро, але за німецьким стандартам ценоутворення у фармації пацієнти повинні отримати знижку.

На сьогоднішній день у Європі кількіть потенційних пацієнтів не перевищує 150-200 осіб, тому препарат навряд буде мати суттєвий вплив на бюджети приватних чи державних медичних закладів. Однак це перший генотерапевтичний препарат у Західній Європі (раніше генну терапію від раку пропонували тільки в Китаї), і тому за долею препарату уважно будуть слідкувати представники фармацевтичних закладів. Прибічники препарату стверджують, що препарат має високу ефективність і здатний повністю вилікувати людину. До того ж, як стверджують представники фірми виробника Chiesi, курс лікування Glybera буде дешевшим, ніж декілька сеансів ферментозамісної терапії. [20].

Література

1. Биология стволовых клеток и клеточные технологии : [в 2-х т.] ; под ред. М. А. Пальцева. – М. : Медицина, 2009. – Т. 1. – 272 с.; Т. 2. – 456 с.
2. Великий М. М. Медична біотехнологія: генна терапія / М. М. Великий // Новітні досягнення біотехнології : матеріали конф., (Київ, 21 жовт. 2010 р.). – Київ, 2010. – С. 14–15.
3. Влияние липопротеинов крови и аполипопротеинов А-1, С и Е на микровязкостные свойства мембран эритроцитов / Л. Е. Панин, В. Н. Бутусова, Н. В. Рязанцева [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 148, № 9. – С. 273–276.
4. Глазко В. И. Генетически модифицированные организмы: от бактерий до человека / Глазко В. И. – Киев : Из-во «КВЦ», 2002. – 210 с.
5. Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Глик Б. – М. : Мир, 2002. – 589 с.
6. Годован В. В. Нові похідні оксигетилідендифосфонатогерманатів при експериментальній патології печінки / В. В. Годован, В. Й. Кресюн // Вісник

Вінницького національного медичного університета. – 2007. – № 11 (2/2). – С. 756.

7. *Кайдашев И. П.* Изучение полиморфизма генов обмена холестерина у пациентов с дислипидемией / И. П. Кайдашев, О. А. Шликова, Л. А. Куценко // Матеріали IV з'їзду медичних генетиків України, (Львів, 9-11 жовт.). – Львів, 2008. – С. 98–99.

8. *Карпов О. В.* Клітинна та генна інженерія / Карпов О. В., Демидов С. В., Кир'яченко С. С. – Київ : Фітосоціентер, 2010. – 208 с.

9. *Карпов Ю. А.* Интенсивное медикаментозное лечение больных с атеросклерозом / Ю. А. Карпов, Е. В. Сорокин // Кардиология. – 2005. – Т. 45. – № 1. – С. 4–7.

10. Роль липопропротеида А и аполипопротеида В-100 в развитии ишемической болезни сердца / К. И. Теблов, Г. Г. Арабидзе, О. В. Полякова [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2005. – № 5 (55). – С. 20–22.

11. *Супрун И. В.* Выявление антигенных различий апо-В нативных и циркулирующих модифицированных ЛПНП / И. В. Супрун, А. А. Мельниченко, Е. В. Янушевская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 138, № 7. – С. 50–52.

12. *Целуйко В. І.* Генетичні аспекти дисліпопротеїдемії та атеросклерозу / В. І. Целуйко // Новини медицини. – 2003. – № 49. – С. 35–37.

13. *Шликова О. А.* Изучение полиморфизма генов обмена холестерина у пациентов с дислипидемией / О. А. Шликова, Л. А. Куценко, А. Ф. Баранова // Матеріали IV з'їзду медичних генетиків України, (Львів, 9-11 жовт. 2008). – Львів, 2008. – С. 106.

14. *Яровая Е. Б.* Мембраны // Е. Б. Яровая, Д.Г. Важкий, В. А. Метельская // Критические технологии. Мембраны. – 2003. – № 3. – С. 13–19.

15. *Ankenbout S.* Protective function of TR3 in atherogenesis / S. Ankenbout // Circulation. – 2002. – № 17. – P. 1530–1535.

16. *Athanasopolus Takis.* Intramuscular injection of a plasmid vector expressing human apolipoprotein E limits progression of xanthoma and aortic atheroma in apo-E deficient mice / Takis Athanasopolus // Human Molecular Genetiks. – 2000. – Vol. 9, № 17. – P. 2545–2551.

17. *Bolla M. K.* Rapid determination of apolipoprotein E/ Genotype using a heteroduplex generation / M.K. Bolla, N. Wood, S.E. Humphries // J. lipid Research. – 1999. – Vol. 40. – P. 2340–2345.

18. *Libby P.* Inflammation and atherosclerosis: role of C- reactive protein in risk assesment / P. Libby, P. M. Ridker // Am. J. Med. – 2004. – Vol. 115 (Suppl. 6A). – P. 9–16.

19. *Rader D. J.* Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment / D. J. Rader, J. Cohen, H. H. Hobbs // J. Clin. Invest. – 2003. – Vol. 111. – P. 1795–1803.

20. *Seppo Ylä-Herttuala* //Molecular Endgame: Glybera Finally Recommended for Approval as the First Gene Therapy Drug in the European Union Therapy. – 2012. – Vol. 20 10. – P.1831–1832.