

Применение методов редактирования генома и генной терапии в лечении заболеваний человека

К.Б.н. С.Н. Птицина

ФГБУН ВИНИТИ РАН, Москва

РЕЗЮМЕ

Данный обзор посвящен одной из актуальных проблем современной биомедицины — генной терапии наследственных заболеваний человека с помощью новых генетических технологий (систем редактирования генома, нуклеаз ZFN и TALEN, CRISPR/Cas9). Проанализирована информация из баз данных ВИНИТИ РАН, SCOPUS, PubMed за 2015–2020 гг., касающаяся как описания общих вопросов разработки новых биотехнологий и моделей заболеваний, использования разнообразных векторов, систем доставки, методов генной инженерии, так и успешного применения вышеуказанных технологий в лечении конкретных болезней. Рассмотрены примеры моделирования и терапии нейромышечных, онкологических, иммунологических, гематологических и нейродегенеративных заболеваний человека. Обсуждаются также этические вопросы, неизбежно возникающие при попытках редактирования генома человека. Результаты анализа публикаций из баз данных предоставляют возможность генерирования новых научно-информационных продуктов по проблемам медицинской генетики с использованием баз данных ВИНИТИ РАН и других источников информации. Ожидается, что полученные данные будут полезны как исследователям-генетикам, так и врачам-клиницистам.

Ключевые слова: наследственные болезни, биомедицина, генетика, генная терапия, методы, редактирование генома, система CRISPR/Cas9, биотехнологии, базы данных.

Для цитирования: Птицина С.Н. Применение методов редактирования генома и генной терапии в лечении заболеваний человека. РМЖ. 2021;10:57–62.

ABSTRACT

Genome editing and gene therapy methods in the treatment of human diseases

S.N. Ptitsina

All-Russian Institute of Scientific and Technical Information of the Russian Academy of Sciences, Moscow

This review is devoted to one of the urgent problems of modern biomedicine — gene therapy of hereditary human diseases using new genetic technologies (genome editing systems, ZFN and TALEN nucleases, CRISPR-Cas9). The information from the databases of All-Russian Institute of Scientific and Technical Information of the Russian Academy of Sciences, SCOPUS, PubMed for 2015–2020 is analyzed. It is concerned both the general issues description of the new biotechnologies and disease models development, the use of various vectors, delivery systems, genetic engineering methods, and the successful application of the above technologies in the treatment of specific diseases. The article presents examples of modeling and therapy of neuromuscular, oncological, immunological, hematological and neurodegenerative human diseases. It also discusses the ethical issues that inevitably arise when editing the human genome. The results of the publication analysis from databases (All-Russian Institute of Scientific and Technical Information of the Russian Academy of Sciences, SCOPUS, PubMed for 2015–2020) provide an opportunity to generate new scientific and information products on the problems of medical genetics. It is expected that the data obtained will be useful to both geneticists and clinicians.

Keywords: hereditary diseases, biomedicine, genetics, gene therapy, methods, genome editing, CRISPR-Cas9 system, biotechnologies, databases.

For citation: Ptitsina S.N. Genome editing and gene therapy methods in the treatment of human diseases. RMJ. 2021;10:57–62.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность данной работы обусловлена стремительным развитием молекулярной генетики и созданных ею генетических технологий. Расширились возможности генной терапии заболеваний, появились методы редактирования геномов, в том числе генома человека [1, 2]. Современные геномные технологии позволили лечить заболевания, считавшиеся ранее неизлечимыми, способствовали развитию персонализированного подхода к диагностике заболевания и лечению пациента с учетом индивидуальных характеристик его генома [3].

МЕТОДЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Генная инженерия позволила создавать определенные геномные конструкции бактерий, но испытывала нехватку методов при работе с геномами высших организмов. Подходы к редактированию генома человека появились лишь в конце прошлого века. С целью обеспечения адресной доставки гена в клетки-мишени стали использоваться рекомбинантные носители (векторы), чаще всего сконструированные на основе вирусов, подвергшихся специальной модификации с целью повышения их безопасности для человека. Чаще всего применяются рекомбинантные

аденовирусы, ретровирусы, аденоассоциированные вирусы, лентивирусы и ряд других [4–7].

Путем введения модификаций в геном ретровируса, т. е. вставки измененных человеческих генов, можно добиться внедрения в геном хозяина таких элементов. Однако отсутствие специфичности встраивания являлось существенным недостатком. Поэтому находкой стал разработанный в 2012–2013 гг. метод редактирования генома CRISPR/Cas, в основе которого лежит способ защиты бактерий от вирус-бактериофагов, выражающийся в избирательном расщеплении его ДНК, своеобразный «иммунитет» бактерий [8, 9]. В 2020 г. Д. Дудна и Э. Шарпантье за разработку данного метода в применении к клеткам человека удостоены Нобелевской премии по химии. Сначала на бактерии *Streptococcus pyogenes* они установили, как работает белок Cas9, а позднее показали, что с помощью этого механизма можно разрезать в адресной точке любую молекулу ДНК, в том числе и ДНК человека [8].

Создание системы CRISPR/Cas немедленно явилось мощным стимулом ее использования в России. Внедрение новой технологии произвело революцию в области генетической терапии, поскольку она позволяет намного более точно редактировать ген, чем ранее описанные инструменты, проверить ее на животных моделях и вплотную подступить к лечению генетических заболеваний у людей [7]. В настоящее время подробно описан механизм CRISPR/Cas9, включая его биохимические и структурные последствия, выделены последние улучшения в системе CRISPR/Cas9, особенно модификации белка Cas9 для настройки, рассмотрены современные приложения, в которых использовалась универсальная система CRISPR/Cas9 для редактирования генома, эпигенома или РНК различных организмов [3, 9]. С помощью CRISPR/Cas можно вносить точечные мутации, встраивать в определенные места новые гены или, наоборот, удалять участки нуклеотидных последовательностей, исправлять или заменять фрагменты генов. В современных обзорах представлено изучение технических аспектов, областей применения и перспектив этой технологии в различных областях [3, 7, 9].

Другие способы модификаций генома связаны с технологиями ZFN и TALEN [1], основанными на природных свойствах определенных белков, называемых нуклеазами. Эти ферменты умеют проводить специфическое вырезание участка исходного генома и встраивание в место разреза привнесенного с собой фрагмента исправленной ДНК. Такой способ позволяет проводить целевую модификацию нарушенных генов, гораздо более точную, чем просто ретровирусная. Отличие ZFN и TALEN заключается в использовании разных видов ферментов, но итог их работы примерно одинаков. ZFN и TALEN не нашли массового применения в медицине, прежде всего из-за трудоемкости метода. Для редактирования же генома с помощью системы CRISPR/Cas9 используется единственный белок Cas9, вносящий разрыв в ДНК, а РНК-гид, узнающую мишень на простом принципе комплементарного узнавания нуклеиновых кислот, можно создать за короткое время. Это новый уровень редактирования, более дешевый и точный. В первую очередь с помощью CRISPR/Cas9 можно лечить моногенные генетические заболевания: гемофилию, муковисцидоз, лейкемию. В этих случаях понятно, какие именно гены нужно отредактировать, но существуют заболевания с высокой наследуемостью, генетическая при-

рода которых очень сложна. Такие многофакторные болезни — сложный результат взаимодействия разных генов и их вариантов, для лечения потребуются комплексные подходы [10].

Разделяют два способа воздействия генных конструкций на клетки-мишени — *in vivo* и *ex vivo* [11]. В первом случае — непосредственно на тканях живого организма с использованием адресной доставки нуклеиновых кислот и преодолением сложных проблем, связанных с быстрой деградацией чужеродного биологического материала. Во втором случае воздействие основано на генотерапевтической модификации вне организма стволовых клеток, клеток крови, костного мозга и др. с последующим их возвратом в системный кровоток или пораженный орган. Используя систему CRISPR/Cas9, можно было бы получить образец костного мозга пациента и вылечить его собственные кроветворные стволовые клетки и затем ввести их в организм, предварительно устранив с помощью облучения собственные пораженные кроветворные клетки. Они начнут делиться и производить здоровые кровяные клетки. Если же речь идет о редактировании, например, генов клеток опухоли печени, все гораздо сложнее. Нужно будет решить проблему доставки компонентов CRISPR/Cas9-системы именно к пораженным клеткам. Хотя многие исследования показали, что технология CRISPR/Cas9 является более эффективной, специфичной и управляемой, чем предыдущие поколения инструментов редактирования генов, ее можно еще улучшить, повысив ее общую эффективность при более высокой частоте модификаций генома и уменьшив ее нецелевые эффекты. Уже рассматривается развитие технологии CRISPR/Cas9 с особым вниманием к повышению специфичности его последовательности, уменьшению нецелевых эффектов и систем доставки [12]. В данном обзоре представлены примеры недавнего успешного применения технологии CRISPR/Cas9 в лабораторных и клинических исследованиях.

Открытие возможности перепрограммирования зрелых клеток человека и разработка инженерных эндонуклеаз для улучшения редактирования генома являются двумя наиболее впечатляющими и эффективными технологическими достижениями в современной медицине и науке [13]. У индуцированных плюрипотентных стволовых клетках человека (ИПСК) есть потенциал для создания новых модельных систем для изучения биологии развития человека, механизмов заболеваний и тестирования лекарственных препаратов. Коррекция генов в специфических для пациента ИПСК может стать новым источником для заместительной клеточной терапии [14]. Инструменты редактирования генома уже произвели революцию в биомедицинских исследованиях, в настоящее время ожидается их применение в клинике. Тем не менее широкое использование данных методов в исследованиях выявило большую непредсказуемость эффектов, необходимость обширной проверки моделей, молекулярного обоснования соотношения риска и пользы. Проблемы эти широко обсуждаются [15].

Другие наиболее часто применяемые методы генной терапии — использование антисмысловых нуклеотидов как в эксперименте, так и в клинике, метод генного «глушения», или генный сайленсинг, метод выключения генов, основанный на РНК-интерференции, использование для модуляции экспрессии генов микроРНК [16, 17]. Развивается применение оптогенетической геномной инженерии

для создания животных моделей, в частности для получения генетически модифицированных мышей для биомедицинских исследований [18]. Высокоэффективная технология обеспечивает эффективную рекомбинацию ДНК, которая активируется при освещении синим светом с пространственно-временной точностью. Создана фотоактивируемая модель мыши с нокаутированной рекомбиназой Cre-loxP (мыши TRE-PA-Cre) с использованием системы CRISPR/Cas9. Модель обещает быть полезной для оптогенетической инженерии генома неинвазивным и специфичным для типа клеток методом *in vivo*. Особое место среди методов генной терапии занимает ДНК-вакцинация, по сравнению с традиционными вакцинами она дает возможность индукции как гуморального, так и клеточного иммунного ответа, отличается низкой эффективной дозой, а также отсутствием вирулентности, простотой и быстротой получения высоких доз вакцины, высокой устойчивостью и удобством хранения [2].

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

НЕЙРОМЫШЕЧНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Удалось показать, что внутривенная генная терапия с помощью вектора AAV9 может остановить спинальную мышечную атрофию 1 типа (SMA1) — прогрессирующее моногенное заболевание двигательных нейронов, которое возникает в младенчестве, что приводит к неспособности к движению и смерти или необходимости искусственной вентиляции легких в возрасте до 2 лет. Ученым удалось осуществить функциональную замену мутантного гена фактора выживаемости мотонейронов-1 (SMN1). В ноябре 2017 г. международная группа специалистов и компания AveXis сообщили о том, что однократное внутривенное введение аденоассоциированного вирусного вектора, содержащего ДНК, кодирующую SMN, пациентам с SMA1 обусловило более длительное выживание и лучшую моторную функцию, чем в контрольных когортах [19].

Крупным прорывом в области генной терапии стало сообщение о том, что ученые-клиницисты сохранили жизнь девочке, родившейся с фатальным наследственным нейромышечным заболеванием SMA1, путем введения отсутствующего гена в ее спинальные нейроны. В 8 нед. она прошла курс генной терапии, который дал ее организму критически недостающий белок. Результаты испытания, в котором участвовала маленькая пациентка, явились одним из самых впечатляющих успехов в некогда проблемной области, поскольку исследователи впервые провели новый ген через гематоэнцефалический барьер [20]. Успешный клинический исход эксперимента позволил надеяться на применение генной терапии в лечении других нейрозаболеваний путем доставки генов в таргетные клетки с помощью векторов на основе аденоассоциированного вируса.

Мышечная дистрофия Дюшенна является одним из наиболее распространенных наследственных генетических заболеваний и вызвана мутациями в гене DMD, который кодирует белок дистрофин. Недавние успехи в редактировании генома и генной терапии дают надежду на развитие потенциальной терапии. Укороченные версии гена DMD могут доставляться в пораженные ткани с вирусными векторами и уже продемонстрировали многообещающие результаты на различных моделях животных. Редактирование генома с помощью системы CRISPR/Cas9 было

использовано для восстановления экспрессии дистрофина путем делеций одного или нескольких экзонов гена DMD в клетках пациента и на мышечной модели. Более подробно применяемые технологии и их развитие рассмотрены в обзорах, где представлены последние достижения и перспективы по трем основным подгруппам терапии дистрофии Дюшенна, включая генную терапию, клеточную терапию и фармакологическую терапию [21–23].

ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Опухоли остаются проблемой для здоровья во всем мире, и генная терапия является серьезным подходом к их лечению. В онкологии легкость и универсальность CRISPR/Cas9 позволили идентифицировать новые гены-мишени и раскрыть некоторые механизмы устойчивости к терапии [24]. До сих пор большинство исследований проводилось на опухолях у взрослых. В последние годы технология CRISPR/Cas9 применяется в лечении редких детских злокачественных новообразований, сарком мягких тканей, в отношении которых этот подход представляется многообещающим [25]. Достигнуты успехи генной терапии в лечении отдельных видов рака [26–28], появились новые подходы к поиску критически важных генов в раковом геноме [29]. Саркомы относятся к наиболее агрессивным опухолям и обычно плохо реагируют на химиотерапию. В последние годы было показано, что специфическое слияние / мутации генов или избыточная экспрессия/активация генов участвуют в патогенезе развития саркомы. РНК-направляемая нуклеаза CRISPR/Cas9 является удобной и универсальной платформой для сайт-специфического редактирования генома и эпигеном-направленной модуляции. В настоящее время обсуждаются механизмы применения редактирования генома в случае саркомы, будущие направления исследований и проблемы, с которыми сталкиваются при реализации этих подходов [30]. Подход *ex vivo* к редактированию очень эффективен для многих болезненных состояний, включая рак и серповидноклеточную анемию, но в идеале редактирование генома также следует применять к заболеваниям, которые требуют модификации клеток *in vivo*. Однако использование технологий CRISPR *in vivo* может быть затруднено такими проблемами, как нецелевое редактирование, неэффективная или нецелевая доставка и стимуляция контрпродуктивных иммунных реакций. Исследования, направленные на решение этих проблем, могут заложить научную основу клинических испытаний с участием ZFN, TALEN и редактирования генома на основе CRISPR с учетом известных ограничений использования CRISPR у людей [31].

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА

Хроническая гранулематозная болезнь (ХГБ) является редким наследственным заболеванием фагоцитарных клеток. Имеются сообщения о первоначальных результатах, полученных у 9 пациентов с тяжелой формой ХГБ, которые получали *ex vivo* аутологичную генную терапию на основе CD34 и гемопоэтических стволовых клеток. Выжившие пациенты не имели новых инфекций, связанных с ХГБ, и 6 человек смогли прекратить антибиотикопрофилактику. Первичная цель была достигнута у 6 из 9 пациентов через 12 мес. наблюдения, что позволило считать аутологичную генную терапию перспективным подходом для пациентов с ХГБ [32].

Атаксия-телеангиэктазия (АТ) и синдром Айкарди — Гутьерес (САГ) являются наследственными нарушениями иммунитета с преобладающим неврологическим фенотипом. Доступные методы лечения лишь частично эффективны, прогноз при их применении неблагоприятный. ИПСК получают путем перепрограммирования соматических клеток пациента, сохраняя индивидуальное генетическое наследие донора и создавая модели заболевания конкретного пациента, полезные для исследования патогенеза, эффектов лекарств и разработки методов лечения. Исследовали цитотоксичность панели иммуномодуляторов с использованием ИПСК пациентов с АТ или различными формами САГ [34]. Цитотоксические эффекты двух препаратов, предложенных для лечения соответственно АТ и САГ (дексаметазон и мепакрин), были оценены после 72-часового воздействия. Данные были получены также для других иммуномодулирующих препаратов (тиогуанин, меркаптопурин, талидомид и леналидомид). Была проанализирована относительная экспрессия генов, участвующих в тестируемых лекарственных путях, и предложена инновационная модель *in vitro*, полезная для исследования механизмов лекарственных средств, потенциально эффективных при вышеуказанных заболеваниях [34].

ЗАБОЛЕВАНИЯ ОРГАНОВ ЗРЕНИЯ И СЛУХА

В последнее время генная терапия рассматривается как потенциально эффективное средство лечения заболеваний дегенерации сетчатки. Система CRISPR/Cas9 и ее комбинации с плюрипотентными стволовыми клетками уже используются в качестве мощного инструмента редактирования генома в офтальмологических исследованиях с учетом ее преимуществ и проблем [35]. Очерчены клинические пути для лечения наследственных заболеваний глаз на основе CRISPR и дан обзор важных этических последствий редактирования генов [36].

Примером может служить изучение ретинопатии у недоношенных детей [37]. Длинная некодирующая РНК (lncRNA) регулирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток сетчатки человека, а также неоваскуляризацию сетчатки при диабетической ретинопатии. Основываясь на сходстве патогенезов ретинопатии у недоношенных детей и диабетической ретинопатии, сделали вывод о сходной роли lncRNA в патогенезе двух видов ретинопатии и разработали модель на животных (мыши) для изучения патогенеза у детей. Установили, что различно экспрессируемые lncRNA могут регулировать патогенез ретинопатии у мышей через микроРНК и множественные сигнальные пути, и предложили потенциальные терапевтические мишени для генной терапии.

Потеря слуха является одним из наиболее распространенных сенсорных расстройств, затрагивающих примерно 1 из 500 новорожденных без лечения. Мутации генов внутреннего уха способствуют большей части генетической глухоты. С технологией CRISPR/Cas9 функции генов внутреннего уха могут быть эффективно изучены путем нарушения нормальных аллелей гена. Что касается генетической потери слуха, то CRISPR/Cas9 может восстанавливать измененные мутациями гены с помощью гомологичной репарации. Показали, что CRISPR/Cas9-опосредованное редактирование генома может эффективно выполняться во внутреннем ухе млекопитающих *in vivo*. В настоящее время обсуждаются вопросы, касающиеся применения CRISPR/Cas9 в слуховых системах, связанных с генетической потерей слуха у человека [38].

Синдром Ашера является частой причиной потери слуха и зрения у людей. Были определены три клинических подтипа, на данный момент идентифицировано 10 генов USH. Охарактеризованы несколько моделей мышей Usher, которые точно воспроизводят слуховой фенотип, связанный с синдромом Ашера, и вестибулярный фенотип, связанный с некоторыми мутациями в генах USH. За последние 10 лет появились новые методы лечения синдрома Ашера, основанные на недавнем прогрессе в передаче генов и новых инструментах редактирования генов [39]. Многообещающий успех, демонстрирующий восстановление функций слуха и равновесия, достигнут с помощью различных терапевтических стратегий на моделях животных. Однако перенос метода в клинику требует его дальнейших улучшений.

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Гемоглобинопатии — это группа наследственных заболеваний, обусловленных генетическими нарушениями, приводящими к абберантной экспрессии гемоглобина или изменениям его структуры, что приводит к тяжелым нарушениям здоровья и смерти. Серповидноклеточная анемия и β -талассемия, наиболее распространенные формы гемоглобинопатий, обычно лечатся с помощью переливаний и фармакологических препаратов. Современная терапия гемоглобинопатий основана на трансплантации аллогенных стволовых клеток от здоровых доноров, однако она может применяться только у ограниченного числа пациентов. Новым лечебным подходом является коррекция генов с помощью нуклеазы, которая включает применение инструментов точного редактирования генома для исправления вызывающей болезнь мутации. В настоящее время представлены приложения для инженерии генома с использованием CRISPR/Cas9 и рассмотрены проблемы и перспективы применения системы CRISPR/Cas9 в качестве варианта лечения серповидноклеточной анемии [40].

Гемофилия вызывается различными мутациями в генах фактора свертывания крови, включая фактор VIII (FVIII) и фактор IX (FIX), которые кодируют ключевые белки в пути свертывания крови. Выходя за рамки культивируемых клеточных систем, исследователи сейчас вступают в эпоху прямой генной коррекции *in vivo* с использованием различных инструментов доставки. Уже описано текущее состояние технологии редактирования генома *in vivo* и *ex vivo*, связанной с возможной коррекцией гена гемофилии, и важные вопросы, связанные с применением технологии редактирования генов гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с гематологическими заболеваниями [41–43].

ДРУГИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Муковисцидоз — хроническое прогрессирующее аутосомно-рецессивное заболевание, связанное с нарушением функций секреторных эпителиальных клеток и приводящее, в частности, к обструкции дыхательных путей и протоков поджелудочной железы. Установлено, что болезнь вызывается мутацией в гене *CFTR*, что позволило бороться с фатальным исходом заболевания. В настоящее время обсуждаются возможности использования технологий геномного редактирования применительно к лечению муковисцидоза. Установлено, что именно система CRISPR/Cas9 смогла обеспечить более простой, быстрый и доступный по цене метод редактирования, чем применение ранее открытых нуклеаз ZFN и TALEN [44].

ДЛКЛ: УГРОЖАЮЩЕЕ ЖИЗНИ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ С ПРОГРЕССИРУЮЩИМ ПОРАЖЕНИЕМ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ, ВКЛЮЧАЯ ПЕЧЕНЬ, СЕЛЕЗЕНКУ, КИШЕЧНИК, СОСУДЫ И ДР.¹

ДИСЛИПИДЕМИЯ В СОЧЕТАНИИ С ПРИЗНАКАМИ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ? ПОДУМАЙТЕ О ДЕФИЦИТЕ ЛИЗОСОМНОЙ КИСЛОЙ ЛИПАЗЫ (ДЛКЛ)

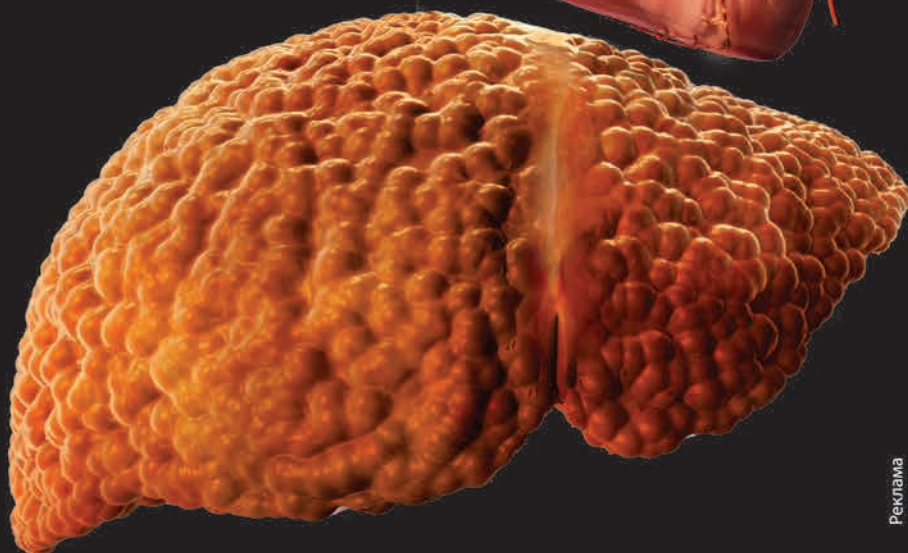
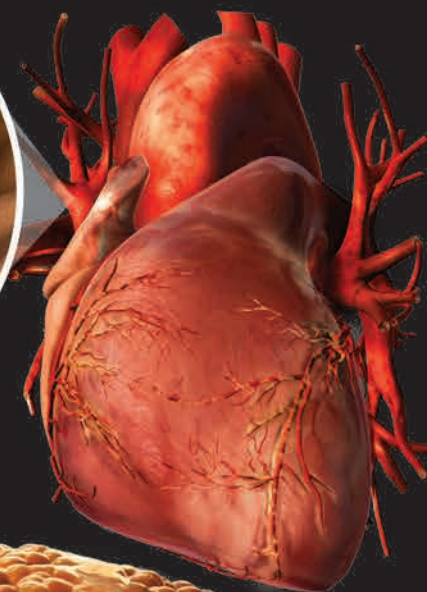
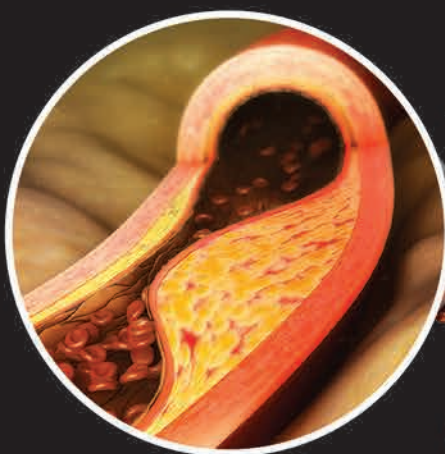
Мутация в гене *LIPA*

Отсутствие жизненно важного фермента ЛКЛ

Нарушение метаболизма липидов

Дислипидемия
(↑ ОХС: ↑ Х-ЛНП, ↓ Х-ЛВП
± ↑ ТГ)

- Ускоренное формирование атеросклероза уже в молодом возрасте¹
- Ишемическая болезнь сердца¹
- Инфаркт миокарда¹
- Инсульт¹
- Аневризмы сосудов, чаще аорты^{1,3}



Реклама

ДЛКЛ ТРЕБУЕТ ПРОВЕДЕНИЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ И АКТИВНОГО МОНИТОРИНГА В СВЯЗИ С ВОЗМОЖНЫМ РАЗВИТИЕМ ГУБИТЕЛЬНЫХ И НЕПРЕДСКАЗУЕМЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ^{1,2}

Литература: 1. Bernstein DL, et al. *J Hepatol.* 2013;58:1230-43. doi:10.1016/j.jhep.2013.02.014. 2. Reiner Ž, et al. *Atherosclerosis.* 2014;235:21-30. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.04.003. 3. Rashu E. B. et al. Cholesteryl ester storage disease of clinical and genetic characterisation: A case report and review of literature // *World Journal of Clinical Cases.* – 2020. – Т. 8. – № 9. – С. 1642.
Сокращения: ЛКЛ- лизосомная кислая липаза, ОХС - общий холестерин, Х-ЛНП - холестерин липопротеидов низкой плотности, Х-ЛВП - холестерин липопротеидов высокой плотности, ТГ - триглицериды

ООО «Сви́кс Биофарма»
125047, г. Москва, 1-я Тверская-Ямская ул., д. 23, стр. 1, эт. 5, пом V ком. 4
Тел.: +7 495 229 06 61

PM-RU-2021-8-1600

Swixx  **BioPharma**
Современные препараты доступны для всех

Успешной оказалась попытка применения генотерапии в лечении буллезного эпидермолиза, проявляющегося при повреждении гена *LAMB3* образованием пузырей и эрозий кожи при любом незначительном воздействии. Ребенку с тяжелой формой заболевания успешно трансплантировали трансгенный эпидермис. Его получали, выращивая культуры клеток эпидермиса пациента и обрабатывая их ретровирусами, несущими нормальную копию *LAMB3*. Опыт оказался успешным, прежних симптомов не наблюдается в течение 2 лет [45]. В последние годы предприняты попытки изучения с помощью генной терапии нейродегенеративных заболеваний — болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера [46, 47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следует отметить, что хотя система CRISPR/Cas9 обеспечивает удобное редактирование генома, сопровождаемое многими преимуществами, она поднимает существенные этические проблемы. В Китае уже сделаны первые шаги в клинических испытаниях технологий редактирования генома, основанных на CRISPR/Cas9. Использовали эмбрионы человека с мутантным геном, приводящим к β -талассемии. В результате эксперимента в 5–10% эмбрионов мутация, ответственная за возникновение болезни у взрослых людей, действительно была исправлена. Однако во всех клетках редактируемых эмбрионов возникло большое количество незапланированных и, возможно, опасных мутаций. Очевидно, что технология нуждается в значительной доработке, прежде всего в улучшении специфичности белка Cas9. Несмотря на интерес к проблеме, два главных научных журнала — Nature и Science отказались публиковать результаты китайских ученых. Возникло множество этических вопросов, которые пока так и не получили единого решения в мире по поводу того, когда же можно, а когда нельзя применять редактирование генома. Пока каждая из стран решает это по-своему. Так, в Великобритании официально разрешены первые опыты по геномному редактированию эмбрионов человека. В Китае запрещено использование преимплантационной генетической диагностики для выбора пола будущего ребенка, но такая процедура не запрещена в США. Несомненно, исследования в этом направлении будут продолжаться, а правовые нормы — разрабатываться. В России генетическим технологиям уделено особое внимание в рамках национальных проектов.

Литература

- Porteus M. Genome editing: A new Approach to Human Therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2016;56:163–190. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010814-124454.
- Наследственные болезни: национальное руководство. Под ред. Е.К. Гинтера, В.П. Пузырева. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019. [Hereditary diseases: national guidelines: short edition / ed. E.K. Gintera, V.P. Puzyreva. M.: GEOTAR-Media; 2019 (in Russ.).]
- Araldi R.P., Khalil C., Grignet P.H. et al. Medical Applications of Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR/Cas) Tool: A Comprehensive Overview. *Gene.* 2020;31:144636. DOI: 10.1016/j.gene.2020.144636.
- Cathomen T. AAV vectors for gene correction. *Curr Opin Mol Ther.* 2004;6(4):360–366.
- Parta M. et al. Allogeneic reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation for chronic granulomatous disease: a single-center prospective trial. *J Clin Immunol.* 2017;37:548–558. DOI: 10.1007/s10875-017-0422-6.
- Kohn D.B., Booth C., Kang E.M. et al. Lentiviral gene therapy for X-linked chronic granulomatous disease. *Nat Med.* 2020;26(2):200–206. DOI: 10.1038/s41591-019-0735-5.
- Wang D., Zhang F., Gao G. CRISPR-Based Therapeutic Genome Editing: Strategies. and In Vivo Delivery by AAV Vectors. *Cell.* 2020;2;181(1):136–150. DOI: 10.1016/j.cell.2020.03.023.
- Jinek M., Chylinski K., Fonfara I. et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science.* 2012;337(6069):816–821. DOI: 10.1126/science.1225829.

- Mei Y., Wang Y., Chen H. et al. Recent Progress in CRISPR/Cas9 Technology. *J Genet Genomics.* 2016;20(43(2)):63–75. DOI: 10.1016/j.jgg.2016.01.001.
- Ньюсбаум Р.Л., Мак-Иннес Р.П., Виллард Х.Ф. Медицинская генетика. Под ред. акад. РАМН Н.П. Бочкова. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010. [Newsbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F. Medical genetics. Ed. of Academician RAMS N.P. Bochkov. M.: GEOTAR-Media; 2010 (in Russ.).]
- Lea A., Niakan K. Human germline genome editing. *Nature Cell Biol.* 2019;21(12):1479–1489. DOI: 10.1038/s41556-019-0424-0.
- Jo Y.L., Suresh B., Kim H., Ramakrishna S. CRISPR/Cas9 system as an innovative genetic engineering tool: Enhancements in sequence specificity and delivery methods. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1856(2):234–243. DOI: 10.1016/j.bbcan.2015.09.003.
- Jang Y.-Y., Ye Z. Gene correction in patient-specific iPSCs for therapy development and disease modeling. *Hum. Genet.* 2016;135(9):1041–1058. DOI: 10.1007/s00439-016-1691-5.
- Rhem H.L., Berg J.S., Plon S.E. ClinGen and ClinVar — Enabling Genomics in Precision Medicine. *Human Mutation.* 2018;39:1473–1475. DOI: 10.1002/humu.23654.
- Teboul L., Hérault Y., Wells S. et al. Variability in Genome Editing Outcomes: Challenges for Research Reproducibility and Clinical Safety. *Mol Ther.* 2020;20(6):1422–1431. DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.03.015.
- Ke Y., Stuart L., Yung C. et al. Self-assembled water-soluble nucleic acid probe tiles for label-free RNA hybridization assays. *Science.* 2008;319(5860):180–183. DOI: 10.1126/science.1150082.
- Leavitt B.R., Tabrizi S.J. Antisense oligonucleotides for neurodegeneration. *Science.* 2020;367(6485):1428–1429. DOI: 10.1126/science.aba4624.
- Takao T., Hiraoka Y., Kawabe K. et al. Establishment of a tTA-dependent photoactivatable Cre recombinase knock-in mouse model for optogenetic genome engineering. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020;526(1):213–217. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.03.015.
- Mendell J.R., Al-Zaidy S., Shell R. et al. Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med.* 2017;2;377(18):1713–1722. DOI: 10.1056/NEJMoa1706198.
- Kaiser J. Gene therapy's new hope: A neuron-targeting virus is saving infant lives. *Science.* 2017;1. DOI: 10.1126/science.aar3664.
- Robinson H.J.N., Gersbach C.A. Gene therapies that restore dystrophin expression for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Hum. Genet.* 2016;135(9):1029–1040. DOI: 10.1007/s00439-016-1725-z.
- Lek A., Zhang Y., Woodman K.G. et al. Applying genome-wide CRISPR-Cas9 screens for therapeutic discovery in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Sci Transl Med.* 2020;12(536):0271. DOI: 10.1126/scitranslmed.aay0271.
- Salmaninejad A., Jafari Abarghan Y., Bozorg Qomi S. et al. Common therapeutic advances for Duchenne muscular dystrophy (DMD). *Int J Neurosci.* 2020;3:1–20. DOI: 10.1080/00207454.2020.1740218.
- Tan J., Yu W. CRISPR as a tool in tumor therapy: A short review. *Biotechnol Appl Biochem.* 2020;5. DOI: 10.1002/bab.1913.
- Pomella S., Rota R. The CRISPR(Y) Future of Pediatric Soft Tissue Sarcomas. *Front Chem.* 2020;13(8):178. DOI: 10.3389/fchem.2020.00178.
- Wang M.D., Shin D.M., Simons J.W., Nie S. Nanotechnology for targeted cancer therapy. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2007;7(6):833–837. DOI: 10.1586/14737140.7.6.833.
- Yamada Y., Naruse K., Nakamura K. et al. Potential for molecular-targeted therapy targeting human epidermal growth factor receptor-2 for invasive bladder cancer. *N. Oncol. Rep.* 2007;18(1):3–7.
- Mehyar M., Mosallam M., Tbakhi A. et al. Impact of RB1 gene mutation type in retinoblastoma patients on clinical presentation and management outcome. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2020;13(3):152–159. DOI: 10.1016/j.hemonc.2020.02.006.
- Пятицкий М.А., Карпов Д.С., Мошковский С.А. Подходы к поиску критически важных генов в раковом геноме. *Биомед. химия.* 2018;(4):303–314. [Pyatnitsky M.A., Karpov D.S., Moshkovsky S.A. Approaches to the search for critical genes in the cancer genome. *Biomed. Chemistry.* 2018;(4):303–314 (in Russ.).]
- Liu T., Shen J.K., Li Z. et al. Development and potential applications of CRISPR-Cas9 genome editing technology in sarcoma. *Cancer Lett.* 2016;373(1):109–118. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.01.030.
- Hirakawa M.P., Krishnakumar R., Timlin J.A. et al. Gene editing and CRISPR in the clinic: current and future perspectives. *Biosci Rep.* 2020;40(4):R20200127. DOI: 10.1042/BSR20200127.
- Brendel C., Rothe M, Santilli G. et al. Non-clinical efficacy and safety studies on G1XCGD, a lentiviral vector for ex vivo gene therapy of X-linked chronic granulomatous disease. *Hum. Gene Ther. Clin. Dev.* 2018;29:69–79. DOI: 10.1089/humc.2017.245.
- Grez M., Reinchenbach J., Schwable J. et al. Gene therapy of chronic granulomatous disease: the engraftment dilemma. *Mol. Ther.* 2011;19:28–35. DOI: 10.1038/mt.2010.232.
- Genova E., Cavion F., Lucafò M. et al. Biomarkers and precision therapy for primary immunodeficiencies: an in vitro study based on induced pluripotent stem cells (iPSCs) from patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2020;108:358–367. DOI: 10.1002/cpt.1837.
- Cai Bincui, Sun Shuo, Li Zhiqing et al. Application of CRISPR/Cas9 technologies combined with iPSCs in the study and treatment of retinal degenerative diseases. *Human Genetics.* 2018;137(9):679–688. DOI: 10.1007/s00439-018-1933-9.
- Hung S.S.C., McCaughey T., Swann O. et al. Genome engineering in ophthalmology: Application of CRISPR/Cas to the treatment of eye disease. *Prog Retin Eye Res.* 2016;53:1–20. DOI: 10.1016/j.preteyeres.
- Wang Y., Wang X., Ma Y. et al. Expression profiles of long noncoding RNAs in retinopathy of prematurity. *Neural Regen Res.* 2020;15(10):1962–1968. DOI: 10.4103/1673-5374.280328.

Полный список литературы Вы можете найти на сайте <http://www.rmj.ru>