

Terapia genowa: wprowadzenie

Introduction to gene therapy

Artur Robert Cieślewicz

Zakład Farmakologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Poza chorobami wywoływanymi działaniem patogenów istnieje duża grupa chorób o podłożu genetycznym. Skuteczne leczenie takich chorób wymaga zastosowania specyficznych metod, takich jak terapia genowa. Prezentowany artykuł krótko omawia podstawowe zagadnienia związane z terapią genową, takie jak: przyczyny chorób genetycznych, rodzaje terapii genowej oraz stosowane w terapii wektory. (*Farm Współ 2011; 4: 191-193*)

Słowa kluczowe: choroby genetyczne, terapia genowa, wektory

Summary

Besides diseases caused by pathogens, there is a large group of afflictions with genetic base. Effective treatment of such diseases requires the use of specific methods such as gene therapy. The article briefly discusses the basic issues related to gene therapy, such as causes of genetic diseases, types of gene therapy treatment and vectors used in gene therapy. (*Farm Współ 2011; 4: 191-193*)

Keywords: genetic diseases, gene therapy, vectors

Choroby genetyczne

Bardzo wiele chorób wywoływanych jest działaniem czynników patogennych, takich jak wirusy, bakterie, czy też niektóre pierwotniaki i grzyby. Oprócz tego istnieje duża grupa chorób, które warunkowane są działaniem czynników genetycznych (tabela 1) [1]. Najczęstszą przyczyną takich chorób są mutacje, powodujące wadliwe działanie białek kodowanych przez zmutowane geny.

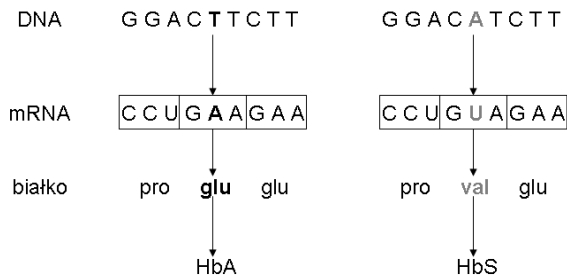
Pierwszą opisaną chorobą o podłożu genetycznym była anemia sierpowata. Bezpośrednią przyczyną anemii jest mutacja w obrębie sekwencji kodującej β -globinę (zamiana pojedynczego nukleotydu – tyminy na adeninę), powodująca zmianę sekwencji aminokwasowej białka (zamiast kwasu glutaminowego wprowadzana jest walina; rycina 1). Ta pojedyncza zmiana sprawia, że zamiast normalnej hemoglobiny A syntetyzowana jest hemoglobina S o zmienionych właściwościach fizykochemicznych, która ma niższe

Tabela 1. Przykłady chorób genetycznych o podłożu jednogenowym i wielogenowym [1]

Table 1. Examples of monogenic and multigenic diseases [1]

CHOROBY GENETYCZNE	
O podłożu jednogenowym	O podłożu wielogenowym
Niedobór deaminazy adenozyliny Niedobór α -1 antytrypsyny Mukowiscydoza Neurofibromatoza Fenyloketonuria Zespół SCID	Choroby serca Niedoczynność tarczycy Rak okrężnicy Choroba Alzheimera Cukrzyca

powinowactwo do tlenu oraz sprawia, że eryocyty przyjmują charakterystyczny sierpowaty kształt [1].



Rycina 1. Mutacja w genie β -globiny powodująca anemię sierpowatą

Figure 1. Mutation in β -globin gene responsible for sickle cell disease

W chwili obecnej opisano ponad 12 000 genów, których mutacje przyczyniają się do powstawania chorób [2]. Do niedawna możliwości leczenia chorób genetycznych były bardzo ograniczone. Najskuteczniejszy lek eliminuje bezpośrednią przyczynę choroby. W przypadku infekcji bakteryjnych takim lekiem jest odpowiednio dobrany antybiotyk. Leczenie chorób genetycznych wymagało zatem znalezienia sposobu na naprawę wadliwie funkcjonujących genów. Takim sposobem okazała się *terapia genowa*.

Definicja terapii genowej

Podstawowa koncepcja terapii genowej jest prosta: zastąpienie zmutowanego niefunkcjonalnego genu genem niezmutowanym (gen terapeutyczny), który będzie kodował normalnie funkcjonujące białko. Terapię genową można zatem zdefiniować jako pewien proces medyczny, w którym do komórek pacjenta wprowadza się gen terapeutyczny w celu wyleczenia choroby spowodowanej działaniem genu zmutowanego [3-5].

Ze względu na sposób wprowadzania genu terapeutycznego do komórek pacjenta można wyróżnić dwa rodzaje terapii genowej [1]:

1. *Terapia ex vivo*: od pacjenta pobiera się komórki, do których w warunkach laboratoryjnych wprowadza się terapeutyczny gen. Następnie tak zmienione komórki wprowadza się z powrotem do ciała pacjenta. Ten rodzaj terapii genowej stosuje się w leczeniu chorób genetycznych związanych z takimi komórkami jak leukocyty, czy

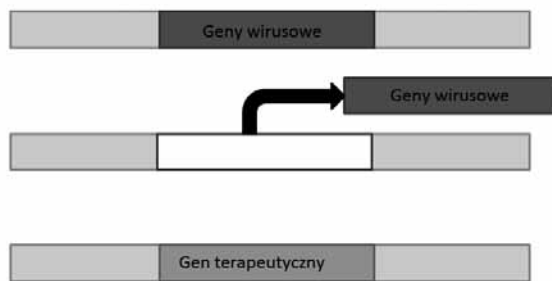
komórki szpiku.

2. *Terapia in vivo*: w tym przypadku terapeutyczny gen jest wprowadzany bezpośrednio do ciała pacjenta przy użyciu specjalnych transporterów, które dostarczają gen do odpowiednich komórek.

Wektory

Jedno z największych wyzwań terapii genowej stanowiła konieczność opracowania systemów transportu genów terapeutycznych, które dostarczałyby gen do właściwych komórek w ciele pacjenta. Takie nośniki określa się jako *wektory*.

Pierwsze wektory używane w terapii genowej opracowano na bazie wirusów. Wektory takie są obecnie najczęściej używane z uwagi na ich wysoką efektywność (DNA jest dostarczane do komórek metodami używanymi przez normalne wirusy). Zaprojektowanie wirusowego wektora polega na usunięciu z wirusowego materiału genetycznego genów wirusa i wstawieniu w ich miejsce genu terapeutycznego (rycina 2). Tak przygotowany DNA pakowany jest w osłonkę wirusa.



Rycina 2. Przygotowanie wektora wirusowego
Figure 2. Preparation of viral vector

Pierwszymi wirusowymi wektorami było zmodyfikowane adenowirusy. Posiadają one wiele zalet, m.in. wysoka efektywność transdukcji, dość duża „pojemność” (maksymalna długość genu terapeutycznego do 8000 par zasad) oraz infekowanie zarówno replikujących, jak i zróżnicowanych komórek. Z uwagi na pewne ograniczenia, takie jak niemożność uzyskania konstytutywnej ekspresji terapeutycznego genu (DNA adenowirusa nie integruje z ludzkim genomem) czy też hamowanie terapii *in vivo* przez silną odpowiedź immunologiczną, opracowano wektory oparte na materiale genetycznym retrowirusów. Wektory takie posiadają podobne zalety do wektorów adenowirusu.

sowych (efektywność transdukcji, „pojemność”), a ponadto umożliwiają zintegrowanie genu terapeutycznego z genomem gospodarza. Z drugiej strony infekują one tylko replikujące komórki (wyjątek stanowią tu wektory oparte na genomie lentiwirusów), zaś integracja z genomem gospodarza zachodzi w sposób losowy, co może doprowadzić do uszkodzenia innych genów [6-8].

Jako bezpieczniejsza alternatywa dla systemów wirusowych opracowane zostały wektory niewirusowe. Najbardziej znanymi są liposomy – otoczone dwuwarstwą lipidową zamknięte sfery. Do wnętrza liposomów wprowadza się terapeutyczny gen. Tak przygotowane liposomy miesza się z komórkami pacjenta (terapia *ex vivo*). Liposomy zlewają się z błoną komórkową, uwalniając do cytoplazmy DNA wektora, które następnie jest transportowane do jądra komórkowego, w którym gen terapeutyczny ulega ekspresji [9-10].

Najbardziej skomplikowanymi wektorami opracowanymi na potrzeby terapii genowej są sztuczne chromosomy. Są to mniejsze wersje ludzkich chromosomów, zawierające takie elementy, jak centromer,

telomery oraz miejsce inicjacji replikacji. Dzięki temu zachowują się tak, jak normalne chromosomy: wiążą się z histonami, ulegają replikacji oraz poprawnie segregują podczas podziału komórki. Najistotniejszą cechą sztucznych chromosomów jest brak górnego limitu długości terapeutycznego genu, jaki mogą zawierać (nie są ograniczane koniecznością upakowania do wnętrza osłonki wirusowej). Ponadto, każdy taki chromosom zawiera elementy regulujące ekspresję terapeutycznego genu, co poszerza możliwości kontrolowania jego działania [10].

Artur Robert Cieślewicz
Zakład Farmakologii Klinicznej, Uniwersytet
Medyczny
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Długa 1/2; 61-848 Poznań
☎ (+48 61) 854 92 16
✉ artcies@gmail.com

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Piśmiennictwo

1. Fitzgerald-Hayes M, Reichsman F. DNA and Biotechnology, Third Edition. Elsevier Inc. 2010. ISBN 978-0-12-048930-5.
2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>
3. Anderson WF. Human gene therapy. *Science* 1992;256:808-13.
4. Baltimore DP. Intracellular immunization. *Nature* 1988;335:395-7.
5. Mizutani TN, Kato M, Hirota K, i wsp. Inhibition of hepatitis C virus replication by antisense oligonucleotids in culture cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;212:906-11.
6. Mah C, Byrne BJ, Flotte TR. Virus-based gene delivery systems. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:901-11.
7. Lotze MT, Kost TA. Viruses as gene delivery vectors: Application to gene function, target validation, and assay development. *Cancer Gene Ther* 2002;9:692-9.
8. McTaggart S, Al-Rubeai M. Retroviral vectors for human gene delivery. *Biotechnol Adv* 2002;20:1-31.
9. Fattal E, Dellattre J, Dubernet C, Couvrur P. Liposomes for the delivery of nucleotides and oligonucleotides. *S.T.P. Pharma Sciences* 1999;9:383-90.
10. Fattal E, Dubernet C, Couvrur P. Liposome-based formulations for the delivery of oligonucleotids. *S.T.P. Pharma Sciences* 2001;11:31-44.
11. Mejia JE, Willmott A, Levy E i wsp.: Functional complementation of a genetic deficiency with human artificial chromosomes. *Am J Hum Genet* 2001;69:315-26.