

# Principy terapie dědičných chorob

V současné době se zkoumají možnosti genové terapie na řadu onemocnění.

## Zárodečná genová terapie

- zásah v **gametě**, v zygotě nebo buňkách embrya ve velmi raném stadiu vývoje
- genetická změna se nachází ve všech **buňkách** nově vzniklého organismu
- vliv bb, ze kterých **vznikají gamety**, proto je přenosná na potomky
- nemůžeme odhadnout **výsledky v dalších generacích**, etické bariéry před provedením zárodečné genové terapie

## Somatická genová terapie

- provedení genetické změny v **somatických buňkách**, nebo tkáních
- tkáně jsou vybírány podle **typu onemocnění**
- **manipulace v buňkách** lze provádět ex vivo, in vivo
- **Ex vivo** = buňky jsou odebrány do vhodného prostředí, po provedení terapie jsou vráceny zpět
- **In vivo** = vhodná pro bb, které je nemožné kultivovat nebo navrátit zpět do organismu
- **vektor nesoucí gen** by mohl být vpraven přímo do tkáně
- úspěšnost těchto pokusů je **velmi malá**
- nejvhodnější bb pro genovou terapii – dlouhá **délka života**, proliferují, lze je snadno získat
- příkladem jsou **kmenové bb kostní dřeně** – jsou ale špatně izolovatelné

## Modifikace somatických buněk

Několik přístupů:

- **vnesení funkční kopie** genu do bb, mutantní gen zůstává nezměněn
- **oprava** mutantního genu nebo umístění fungující kopie genu na místo mutantního genu
- **cílená inhibice** exprese genu
- **cílené zničení specifických buněk** (významné u nádorů)
- zničení specifických buněk bb **imunitního systému**

Cílem je **dlouhodobá exprese vneseného genu**.

Cizí gen se tedy musí **integrovat do chromozomu** hostitelské buňky, bb musí mít schopnost dalšího dělení. Cizí gen se tedy následně přenáší do **dceřiných buněk** - dojde k **různé integraci genu**, v dalších cyklech se tedy nachází na jiných místech.

## Virové vektory

- viry vyvinuly účinné systémy, jak vpravit svoje **genomy do lidských bb**
- virus se musí **modifikovat** tak, aby jeho genom nepoškodil lidskou buňku
- většina **virového genomu** je odstraněna, nahrazena lidským s promotorovými a **regulačními oblastmi**
- **vysoká účinnost**

## Retrovirové vektory

- **genom retrovirů** je tvořen RNA, obsahuje 3 geny (gag, pol, env) a sekvenci fí, která je rozpoznávána **virovými proteiny** - zkompletování virové partikule
- mají vlastní **reverzní transkriptázu**
- po vstupu do **hostitelské buňky** vyvolá reverzní transkripci = vznik cDNA
- cDNA se napojuje do **hostitelské informace** při dělení (jsou porušené membrány)
- **klonovací kapacita** je 8 kb
- vektor s **lidským genem** je vpraven do speciálních buněk, které vytvoří mnoho kopií retrovirů s **lidskou sekvencí**
- **modifikované retroviry** jsou pak inkubovány se somatickými buňkami pacienta (lymfocyty)
- dojde k **inzerce lidského genu** do DNA hostitelských buněk s vysokou účinností
- **choroba** : těžká kombinovaná imunodeficiencie (SCID)

## Adenovirové vektory

- dsDNA zůstane v jádře **lidské buňky**, ale neintegruje se do jejího genomu
- vektor musí být stejně **modifikován jako retrovirus**
- **infikují** bb, které se nedělí (dýchacího systému)
- terapie **cystické fibrozy** – lidský gen CFTR do adenoviru – modifikovaný virus byl aplikován epiteliálním bb dýchacích cest v podobě **aerosolu**

- malá účinnost, pouze přechodná **exprese genu**

## Adeno - asociované virové vektory

- ssDNA, jejíž replikace je závislá na **přítomnosti viru**
- nevyvolávají žádnou **imunitní reakci**
- jako adenoviry mohou **infikovat nedělicí** se bb
- pojmom **malý inzert** – 5kb
- vektor pro geny pro faktor IX lidem s hemofilí B

## Lentivirové vektory

- **komplexní retroviry**, mohou infikovat i nedělicí se bb
- do jádra vstupují otvory v **jaderném obalu**
- **klonovací sekvence** cca 8kb
- **antivirus** = např. HIV

## Problémy spojené s virovou genovou terapií

- **přechodná exprese**, nízká exprese genu
- **obtížné** získání specifických bb, tkání (neurony)
- potřeba **přesné regulace** aktivity genu
- **potenciální nebezpečí** nádorové transformace buňky (náhodná inserce viru do buňky může ovlivnit expresi **vedlejšího genu**, což může být protoonkogen)
- **imunitní reakce** organismu proti virovému vektoru

## Vektory nevirové povahy

- **přímá injekce** DNA do tkáně
- **nastřelení kovových částic**, které obsahují DNA
- **spojení DNA** s molekulou, která je navázána prostřednictvím receptorů na povrch buňky, následuje **endocytóza**
- velmi **malá účinnost** při těchto metodách

## Lipozomy

- uměle vytvořené částice tvořené **fosfolipidovou dvojvrstvou**, které mohou pojmout poměrně **velký inzert DNA**
- mohou **fúzovat s buňkou**, a tak přenést DNA inzert do cytoplazmy
- neobsahují peptidy = nevyvolávají **imunitní odpověď**

## Blokáda exprese genu

- produkty genu fungují v **komplexech molekul** (dimery)
- **mutovaný protein** v komplexu může ovlivnit jejich funkci
- inhibicí transkripce nedojde k **expresi genu**
- náhrada poškození genu **homologní rekombinací**

onemocnění	cílové buňky	produkt inzertu
SCID	lymfocyty, stem cells kostní dřeně	adenosindeaminaza
hemofile B	hepatocyty	faktor IX
cystická fibroza	epitel. Bb dýchacích cest	CFTR
familiární hypercholesterolemie	hepatocyty	LDL receptor
Duchanova muskulární dystrofie	myoblasty	dystrofin
AIDS	TH lymfocyty	retrovirová mutace

### 1. Genová léčba

- př. transformace klonovanými geny
  - choroba: deficiencie adenosindeaminasy (těžká kombinovaná imunodeficience)<sup>[1]</sup>

### 2. Indukce enzymu

- př. barbituráty
  - choroba: kongenitální nehemolytická žloutenka (viz diferenciální diagnostika ikteru)

### 3. Náhrada enzymu

- př. transplantace tkáně
  - choroba: mukopolysacharidózy
- př. substituce enzymu
  - choroba: deficiencie trypsinu

### 4. Substituce proteinu

- př. antihemofilní globulin
- choroba: hemofilie
- 5. **Substituce vitamínu**
- př. vitamin D
- choroba: vitamin D rezistentní rachitis
- 6. **Substituce produktu**
- př. kortison
- choroba: adrenogenitální syndrom
- př. tyroxin
- choroba: kongenitální hypothyreosa
- 7. **Omezení substrátu v dietě**
- př. AMK – Phenylalanin
- choroba: fenylketonurie (viz Poruchy metabolismu aromatických a větvených aminokyselin)
- př. cukry – galaktosa
- choroba: galaktosemie
- př. tuky – cholesterol
- choroba: hypercholesterolemie (viz Dědičné poruchy metabolismu tuků)
- 8. **Léky snižující nadbytečný produkt defektního metabolismu**
- př. cholestyramin (<https://en.wikipedia.org/wiki/Colestyramine>)
- choroba: hypercholesterolemie (v éře statinů obsoletní)
- př. penicilamin (<https://en.wikipedia.org/wiki/Penicillamine>)
- choroba: M. Wilson
- 9. **Náhrada orgánu**
- př. transplantace ledvin
- choroba: polycystická choroba ledvin
- 10. **Odstranění orgánu**
- př. kolektomie
- choroba: familiární polypóza tlustého střeva

## Odkazy

### Související články

- Genové manipulace a genové inženýrství
- Léčba onemocnění způsobených poruchami metabolismu aminokyselin a sacharidů
- Léčba metabolických onemocnění z poruch beta-oxidace mastných kyselin a peroxizomálních onemocnění

### Zdroj

- ŠTEFÁNEK, Jiří. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. [cit. 2009]. <<http://www.stefajir.cz>>.

1. Primární imunodeficience