

Генная терапия ВИЧ

Выполнила:
студентка 1 курса
магистратуры
Мягкая Т.И.

Генотерапия — совокупность генноинженерных (биотехнологических) и медицинских методов, направленных на внесение изменений в генетический аппарат соматических клеток человека в целях лечения заболеваний. Это новая и бурно развивающаяся область, ориентированная на исправление дефектов, вызванных мутациями (изменениями) в структуре ДНК, поражением ДНК человека вирусами или придания клеткам новых функций.

Реальностью генная коррекция соматических клеток стала после 1980-х годов, когда были разработаны методы получения изолированных генов, созданы эукариотические экспрессирующие векторы, стали обычными переносы генов у мышей и других животных.

Вирус иммунодефицита человека —

ретровирус из рода лентивирусов, вызывающий медленно прогрессирующее заболевание — ВИЧ-инфекцию.

Вирус поражает клетки иммунной системы, имеющие на своей поверхности рецепторы CD4: Т-хелперы, моноциты, макрофаги, клетки Лангерганса, дендритные клетки, клетки микроглии. В результате работа иммунной системы угнетается и развивается синдром приобретённого иммунного дефицита (СПИД), организм больного теряет возможность защищаться от инфекций и опухолей, возникают вторичные оппортунистические заболевания, которые не характерны для людей с нормальным иммунным статусом.

Без врачебного вмешательства оппортунистические заболевания вызывают смерть пациента в среднем через 9—11 лет после заражения (в зависимости от подтипа вируса). При проведении антиретровирусной терапии продолжительность жизни пациента может быть продлена до 70—80 лет.

Вакцины против ВИЧ не существует



- Вирус может передаваться через прямой контакт повреждённой или неповрежденной слизистой оболочки или повреждённой кожи здорового человека с биологическими жидкостями заражённого человека: кровью, спермой, секретом влагалища, грудным молоком. Передача вируса может происходить при незащищённом сексе.
- Интактная, неповреждённая кожа является эффективным барьером для инфекции, так как в коже отсутствуют клетки, которые могут быть заражены ВИЧ. Для успешной инфекции требуется прямой контакт с кровеносной системой или с мембранами клеток слизистых оболочек.



- Передача вируса происходит с большей вероятностью при использовании заражённых игл и шприцев (особенно потребителями инъекционных наркотиков), а также при переливании крови (в случае нарушения медицинским персоналом установленных процедур проверки донорской крови). Также передача вируса может произойти между матерью и ребёнком во время беременности, родов (заражение через кровь матери) и при грудном вскармливании (причём как от заражённой матери к здоровому ребёнку через грудное молоко, так и от заражённого ребёнка к здоровой матери через покусывание груди во время кормления).

Как НЕ передается ВИЧ ...



Комаров



Унитаз



Поцелуи



Посуду



Прикосновения

spid-vich-zppp.ru

В 2011 г. было опубликовано сообщение об уникальном случае полного излечения от ВИЧ-инфекции. Данный случай связан с активно развивающимся и перспективным подходом в лечении ВИЧ-инфекции, который называют генной терапией. Подход основан на введении в клетки генетических конструкций, экспрессия которых (т.е. образование функциональных молекул белка или РНК на основании кодируемой генетическими конструкциями информации) придает организму устойчивость к вирусу.

Можно выделить три основных направления в генной терапии ВИЧ:

- Первое — введение генетических последовательностей, которые кодируют молекулярные агенты, подавляющие репликацию вируса в чувствительных клетках или защищающие эти клетки от проникновения вируса, — направление, получившее название «внутриклеточная иммунизация»

- Второе направление предполагает генетическую модификацию цитотоксических лимфоцитов и/или В-лимфоцитов за счет введения генов, кодирующих специфические к ВИЧ рецепторы, цитокины или другие агенты, усиливающие противовирусный иммунный ответ хозяина.
- Третье направление — это терапевтическая или профилактическая вакцинация, основанная на введении генов ВИЧ для экспрессии отдельных вирусных антигенов внутри клетки.
- Счастливики, унаследовавшие мутацию «**дельта-32 CCR5**» от обоих родителей (гомозигота) - являются неуязвимыми для большинства разновидностей ВИЧ.

В Т-клетки вводят конструкции, экспрессирующие:

- антисмысловые РНК к генам ретровируса (ингибируют функции генов ретровируса)
- мутантные гены оболочки (конкурируют в сборке вирусных частиц)
- гены рецепторов (связывают вирусные частицы)
- гены факторов, предотвращающих интеграцию вируса в геном

Связывание с
клеточным
рецептором

Проникновение
внутри клетки -
декапсидация

Синтез ДНК-
копии и ее
интеграция

Размножение,
сборка и выход
из клетки

- Результаты первого клинического испытания антивирусного трансгена (RevM10) были опубликованы в 1996 г.
- С тех пор в рамках направления по внутриклеточной иммунизации было инициировано более 30 клинических испытаний, в которых протестировано не менее 20 генно-терапевтических препаратов. Большая часть исследований была проведена с целью оценки безопасности и осуществимости трансплантации пациентам CD4+ Т-лимфоцитов или CD34+ ГСК, модифицированных антиВИЧ-генетическими конструкциями, т.е. они являлись клиническими испытаниями I фазы. В ранних исследованиях в качестве антивирусных агентов использовали трансдоминантный белок RevM10 или рибозим, которые вводили в клетки при помощи γ -ретровирусного вектора. Пациенты хорошо переносили трансплантацию, серьезных побочных эффектов не наблюдалось. Во всех исследованиях после инфузии в крови пациентов наблюдалось селективное выживание клеток, экспрессирующих терапевтические гены. Однако процент модифицированных клеток оказался очень низким, и терапевтического эффекта достигнуто не было.

- 2011 г. — успешная генотерапия пациента путем трансплантации клеток костного мозга, экспрессирующих мутантный ген рецептора ВИЧ CCR5.



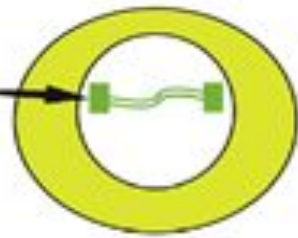
С 2003 г. в клинических испытаниях для доставки трансгенов начали использовать лентивирусные векторы, которые способны обеспечить стабильную экспрессию генов. Впервые лентивирусный вектор был применен для переноса в CD4+ Т-лимфоциты антисмысловой РНК против гена ENV ВИЧ (вектор VRX496).

В клиническом испытании II фазы препарата VRX496 компании VIRxSYS участвовали 17 ВИЧ-инфицированных пациентов, находившихся на ВААРТ. Каждый больной получал от 3 до 6 вливаний модифицированных клеток, через 6 нед. после последней процедуры проводили запланированный перерыв в приеме антиретровирусных препаратов. Прерывание ВААРТ оказалось возможным у 13 из 17 пациентов, а получить конечные показатели эффективности удалось у 8 из них. У 7 из 8 больных наблюдали уменьшение вирусной нагрузки на 0,2–0,98 логарифма по сравнению с результатами анализов до назначения ВААРТ, число CD4+-клеток оставалось стабильным. У одного из пациентов на протяжении 104 дней уровень вирусной нагрузки находился ниже предела детекции (50 копий/мл), а число CD4+ Т-лимфоцитов составляло более 1200 клеток/мкл, при начальном 772 кл/мкл на фоне ВААРТ

Весьма обнадеживающими являются результаты испытания генно-терапевтического препарата, который кодирует нуклеазу, специфически расщепляющую ген рецептора CCR5. В испытаниях I фазы приняли участие 6 пациентов, находящихся на антиретровирусной терапии, у которых число CD4+ Т-лимфоцитов составляло от 200 до 500 кл/мкл. Т-клетки были собраны из периферической крови и трансдуцированы аденовирусным вектором, в состав которого входил ген нуклеазы, затем введены обратно в кровоток. В данном случае действие фермента должно быть одноразовым, поэтому использовался вектор, не встраивающий ген в хромосому. У 5 из 6 пациентов наблюдалось увеличение числа CD4+ на 14-й день после инфузии, после чего на протяжении 1 года оставалось выше, чем до инфузии на 86–911 кл/мкл. У 3 из 5 пациентов произошла нормализация соотношения числа CD4+/CD8+-клеток. Т-лимфоциты с разрушенным CCR5-геном были обнаружены в слизистой оболочке кишечника, что свидетельствует о нормальной способности модифицированных клеток мигрировать в периферические лимфоидные органы. На основании полученных результатов инициировано клиническое исследование II фазы.

CD34+ Hematopoietic stem cell

Introduction of therapeutic gene

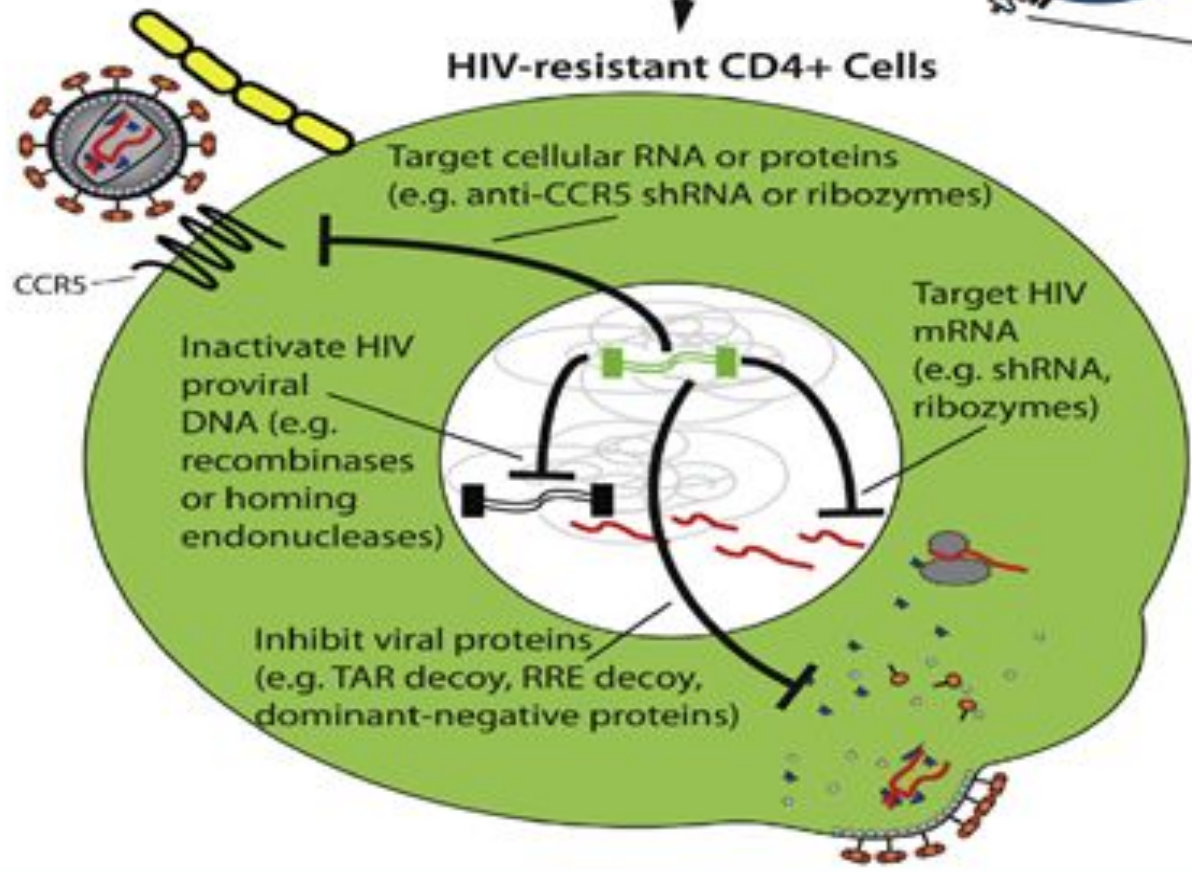


Genetically engineered anti-HIV CD8+ cytotoxic T cells



HIV specific T cell receptor

HIV-resistant CD4+ Cells



На сегодняшний день создано множество генетических конструкций, внутриклеточная экспрессия которых подавляет размножение ВИЧ или защищает чувствительные клетки от заражения вирусом. При исследовании *in vitro* и на животных моделях отдельные генетические конструкции продемонстрировали высокую антивирусную активность, а также позволили предотвратить развитие резистентности вируса. Некоторые из них были протестированы в клинических испытаниях, где была показана безопасность генно-терапевтических препаратов и процедур введения генов, однако достичь желаемой эффективности пока не удалось. В связи с этим продолжается работа по дальнейшему совершенствованию терапевтических генов и их комбинированию, проводится оптимизация технологий работы с клетками и клинических протоколов трансплантации. На стыке этих направлений в ближайшем будущем можно ожидать разработки эффективного генно-терапевтического лекарственного препарата, позволяющего не только проводить поддерживающую терапию, но и излечивать пациентов с ВИЧ-инфекцией.