

В насыщенной двухдневной программе симпозиума прозвучали доклады и лекции ведущих российских и зарубежных учёных, прошли научно-практические семинары для специалистов. Эта встреча собрала видных учёных не только из нашей страны, но и со всего мира – около 400 специалистов в области биомедицинских клеточных технологий, генетики, а также практикующих врачей. Как сказал в своём приветствии руководитель ФМБА России Владимир Уйба, они приехали в Москву, чтобы обсудить всё самое современное, что есть сегодня в медицинской науке, прежде всего – в регенеративной медицине.

### Надежда и потенциал

Профессор Джерар Вагемакер (Нидерланды) убеждён, что в настоящее время крайне необходимо развивать клиническое внедрение генной терапии многочисленных наследственных болезней, которые наблюдаются сегодня в человеческой популяции. На его взгляд, именно генная терапия пополнит перечень терапевтических подходов, используемых в медицинской практике. Она может заменить существующие ныне способы лечения рака, иммунодефицитов, инфекционных и сердечно-сосудистых заболеваний.

Ещё в 90-е годы прошлого века голландский профессор занимался в нашей стране изучением влияния чернобыльской катастрофы на здоровье людей. В настоящее время профессор Вагемакера, который является членом Европейского комитета экспертов по редким заболеваниям, интересуют исследования в области генной терапии наследственных болезней с использованием кроветворных стволовых клеток.

Учёные видят сегодня большой потенциал генетики, её серьёзный вклад в практическое здравоохранение. Она позволяет не только диагностировать заболевание, но и проводить профилактические мероприятия. В области медицинской генетики уже накоплен огромный объём знаний. Он касается дородовой генетической диагностики, которая проводится для предупреждения появления на свет больных детей, профилактики онкологических заболеваний, ДНК-диагностики наследственных заболеваний и выявления предрасположенности к ним.

### И создаём, и лечим

О серьёзной проблеме, связанной с ишемией нижних конечностей, рассказал на симпозиуме кандидат медицинских наук Роман Деев (Москва). Сославшись на статью, опубликованную в авторитетном зарубежном издании, он заявил, что на сегодняшний день более 200 млн человек в мире страдают этим недугом. За последние 10 лет число людей с облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей выросло почти на 25%. По статистике, ишемия нижних конечностей занимает третье место среди заболеваний сердечно-сосудистой системы, на первом и втором – естественно, ишемическая болезнь сердца и инсульт. И проблема приобретает чуть ли не глобальный характер.

Те же статистические данные показывают: если в 2000 г. количество пациентов, имеющих проблемы с кровообращением в нижних конечностях, составляло 164 млн человек, то в 2010 г. цифра увеличилась уже до 202 млн. Причём этим заболеванием страдают в основном не пожилые, а люди среднего возраста. К большому сожалению, оно приводит к высокой вероятности развития инфаркта. Специалисты отмечают, что факторами риска в развитии ишемии нижних конечностей являются сахарный диабет, артериальная гипертония, высокий уровень липопротеинов низкой и

### Деловые встречи

# Генная терапия: революция продолжается

## В Москве состоялся VI Международный симпозиум по актуальным вопросам генных и клеточных технологий

очень низкой плотности, а также курение.

В 25% случаев заболевание, если оно находится в тяжёлой форме, опасно ампутацией конечностей. Главное лечение – хирургическая операция и внутрисосудистое стентирование, которое делается без разреза с минимальной потерей крови.

По словам Деева, в России такой диагноз ежегодно ставится 300 тыс. пациентов. Заболевание часто переходит в критическую форму со всеми вытекающими отсюда последствиями. Именно за первый год четверть больных, имеющих критическую ишемию нижних конечностей, теряют ноги. В связи с этим показатели инвалидизации населения высокие, и учёные ищут пути их снижения.

Ишемия нижних конечностей, как и ишемическая болезнь сердца, по словам учёных, теперь относится к социально значимым заболеваниям. И особое значение приобретает в связи с этим разработка препаратов, а также лечение терапевтическим ангиогенезом. В России уже разработан генотерапевтический препарат для лечения ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза. Он прошёл все необходимые доклинические и клинические исследования, доказав свою эффективность и безопасность, и был зарегистрирован. Механизм действия лекарства направлен на процесс образования и роста кровеносных сосудов. Инновационный препарат представляет собой кольцевую ДНК (плазмиду), которая несёт человеческий ген VEGF165, кодирующий синтез фактора роста эндотелия сосудов. Стимулируя их образование и ангиогенез, препарат даёт длительный лечебный эффект и улучшает качество жизни больных. Как показали исследования, терапевтический эффект после курса приёма сохраняется почти 2 года, но врачи на этом не останавливаются: они намерены наблюдать за пациентами в течение 5 лет.

Было очень интересно послушать ещё одного учёного, второго гостя из Нидерландов – Сандра ван Девентера, научного директора известной биотехнологической компании, тоже разработавшей генотерапевтический препарат. По стоимости он значительно дороже нашего и рассчитан всего лишь на однократное применение. Нидерландский гость говорил о нём с воодушевлением, которое сначала понять было трудно из-за баснословной цены лекарства – 1,6 млн долл., но вскоре всё встало на свои места. Препарат предназначен для генной терапии редкого наследственного заболевания – дефицита фермента липопротеинлипазы (ЛПЛ), а мы знаем, что все лекарственные средства для лечения орфанных заболеваний очень и очень дороги и эффективной терапии до сегодняшнего дня не существует. Возможно, препарат всё-таки найдёт своего покупателя, хотя в этом есть большие сомнения, ведь дефицит фермента ЛПЛ диагностируется у 1-2 человек на миллион. В Евросоюзе таких больных насчитывается всего несколько сотен человек.

Каков же механизм действия созданного лекарства? Оказывается, фермент ЛПЛ помогает расщеплять жиры, поступающие в

организм с пищей. В необходимом для человека количестве фермент не вырабатывается из-за мутации в гене, кодирующем его выработку. Поэтому больные вынуждены сидеть на очень строгой диете, резко ограничивающей жиры. Чуть отклонился от диеты – и уже в крови уровень жира намного повышается. Это ведёт к воспалению поджелудочной железы и даже к летальному исходу.

Работа по созданию препарата нового поколения велась очень большая. Он сделан на основе аденоассоциированного вируса (AAV), в геном которого встроены гены ЛПЛ. Фермент липопротеинлипазы синтезируется в основном в мышечной ткани, поэтому, считают создатели лекарства, даже однократная внутримышечная инъекция даст хороший эффект.

### Из лаборатории в практическую медицину

Особое внимание на симпозиуме было уделено развитию генетической диагностики, и прежде всего преимплантационной (ПГД) – как рационального репродуктивного решения при носительстве моногенных заболеваний. Отечественные учёные отмечали, что ПГД позволяет семьям с носительством наследственного заболевания управлять риском зачатия больного ребёнка в контролируемых условиях лаборатории, где такой риск может быть оценён и исключён.

Главное препятствие к проведению ПГД на сегодня – это сложность постановки молекулярного диагноза, выявляющего конкретную мутацию, которая способствует развитию заболевания. Надежду на постановку точного молекулярного диагноза могут дать методы, которые основаны на секвенировании нового поколения. Тем не менее популярность ПГД постоянно растёт, так как метод имеет множество преимуществ по сравнению с альтернативными подходами в группах риска. Если сравнивать ПГД с пренатальной диагностикой, то, по мнению учёных, ПГД даёт возможность осуществления одновременного анализа нескольких эмбрионов.

В мире проведено несколько десятков тысяч циклов ПГД на моногенные заболевания. Эти циклы завершились рождением здорового ребёнка. Многолетние данные говорят о том, что в настоящее время преимплантационная генетическая диагностика становится правильным выбором для семей из групп риска, которые планируют беременность и рождение здорового малыша.

Специалисты не могли не коснуться и темы пуповинной крови (ПК), методик увеличения количества стволовых клеток, выделенных из ПК для использования их в регенеративной медицине. В настоящее время учёные возлагают большие надежды на стволовые клетки пуповинной крови, говоря о том, что они могут успешно заменить другие источники стволовых клеток для пересадки больным с онкогематологическими и другими заболеваниями, сократить время, которое затрачивается на поиски донора с соответствующим генотипом и сделать процедуру трансплантации доступной каждому нуждающемуся пациенту. Об этом, в частности, сказала специалист

по клеточным технологиям Ирина Цырлова (США).

Традиционными источниками кроветворных стволовых клеток для трансплантации являются костный мозг, пуповинная кровь и периферическая кровь взрослого человека. Однако пуповинная кровь как источник кроветворных стволовых клеток, по мнению многих специалистов, имеет ряд преимуществ. Клетки из пуповинной крови обладают большим пролиферативным потенциалом по сравнению с клетками из других источников, что, вероятно, связано с большой длиной теломера. Т-лимфоциты пуповинной крови являются функционально незрелыми, что снижает вероятность и тяжесть реакции «трансплантат против хозяина». Подбор и получение необходимого для трансплантации образца происходит гораздо быстрее, чем подбор донора костного мозга.

По мнению Цырловой, единственным дефектом такого источника стволовых клеток, как пуповинная кровь, или своеобразной точкой преткновения является недостаточное для пересадки взрослому человеку количество стволовых клеток, находящееся в одном, даже очень тщательно собранном образце. Научно доказано, что регенерация кроветворной системы у детей весом до 45 кг после трансплантации клеток происходит прекрасно, тогда как у взрослых (средний вес 60 кг и более) наблюдается задержка восстановления кроветворения. На сегодняшний момент для того, чтобы ввести взрослому человеку достаточное количество стволовых клеток, врачи делают сочетанные трансплантации двух, а иногда и трёх образцов пуповинной крови.

Исследование экспансии стволовых клеток ПК – одно из самых многообещающих направлений современной медицины. Это процесс увеличения количества стволовых клеток при культивировании различных тканей, например, клеток костного мозга или периферической крови. В процессе экспансии стволовые клетки могут приобретать свойства, близкие к таковым у эмбриональных клеток, и способны дифференцироваться в клетки не только крови, но и других тканей.

Эксперименты в этом направлении проводятся уже более 30 лет, но положительные результаты клинических испытаний появились несколько лет назад. Ирина Цырлова уверена, что совсем скоро можно ожидать перехода новой революционной технологии из лаборатории в практическую медицину.

### О костной ткани и мышечной дистрофии

В докладе Георга Файнштайгера (Австрия) прозвучала мысль о регенерации костной ткани методами генной терапии с использованием невирусного генного трансфера. В своих исследованиях учёный особое внимание уделяет методике переноса ДНК (генов) в клетки с помощью воздействия на них ультразвука, вызывающего открытие пор в клеточной мембране, через которые экзогенная ДНК проникает в клетки и запускает восстановительные процессы.

Джордж Фразер из США рассказал участникам симпозиума

о восстановлении костной ткани с помощью клеток, выделенных из жира. Научные исследования показали, что клетки из данного источника обладают так называемой мультипотентностью, то есть способны дифференцироваться в клетки разных тканей и органов. С помощью специальных добавок и условий культивирования можно добиться дифференцировки выделенных из жира клеток в костную ткань и затем использовать для восстановления плоских и трубчатых костей.

Новейшим направлением в реконструктивной хирургии является использование генных технологий, когда для обеспечения восстановительных процессов применяются ген-оптимизированные матрицы. С докладом о создании тканеинженерных и генактивированных материалов для костной пластики, в основу которого легли полученные экспериментальным путём результаты восстановления костной ткани при помощи генных технологий, выступил научный сотрудник одного из московских медицинских учреждений Илья Бозо.

Сообщение Джулио Коссу (Великобритания) было посвящено методике генно-клеточной терапии мышечных дистрофий, для которых до сих пор не существует эффективных методов лечения. Мышечная дистрофия – группа наследственных заболеваний, которые характеризуются прогрессирующей симметричной атрофией скелетных мышц, протекающей без болей и потери чувствительности в конечностях. Существуют четыре основных вида такой патологии. В 50% случаев встречается мышечная дистрофия Дюшенна. Заболевание начинается в раннем детстве, и больные редко доживают до 20 лет. К 9-12 годам ребёнок уже прикован к инвалидному креслу, а затем прогрессирующая слабость сердечной мышцы приводит к смерти от внезапно наступившей сердечной недостаточности, дыхательной недостаточности или инфекции. Мышечная дистрофия Беккера развивается медленно, больные живут более 40 лет.

Методика доктора Коссу основана на «перепрограммировании» клеток пациентов с мышечной дистрофией в стволовые клетки (iPS-клетки) с последующей дифференцировкой их в клетки-предшественницы мышечной ткани. Впоследствии они генетически корректировались с использованием вирусного вектора или искусственных хромосом и вводились мышцам с дистрофией, в результате чего повреждённые мышечные волокна животных частично восстанавливались. Мыши, получившие такую генно-клеточную терапию, проводили на беговой дорожке больше времени, чем мыши, не получившие лечения.

Учёные полагают, что технология получения iPS-клеток позволяет получать неограниченное количество генетически исправленных клеток-предшественников мышечной ткани. Сам Джулио Коссу считает эту технологию очень перспективной. Он уверен, что в будущем, после проведения клинических исследований, её можно будет использовать для лечения различных форм мышечных дистрофий.

Татьяна КУЗИВ,  
корр. «МГ».