

Жидоморов И. А.

ТЕХНОЛОГИЯ CRISPR/CAS 9 В ТЕРАПИИ КИСТОЗНОГО ФИБРОЗА ЛЕГКИХ

Научный руководитель канд. мед. наук, доцент Сычик Л. М.

Кафедра биологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Кистозный фиброз (КФ), или муковисцидоз (МВ) – системное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, характеризующееся поражением желез внешней секреции, тяжёлыми нарушениями функций органов дыхания и желудочно-кишечного тракта. Это самое распространенное среди известных наследственных заболеваний. Каждый 20-й житель планеты является носителем дефектного гена, более 70 000 человек во всем мире страдают данной патологией. В РБ в 2004 г. взрослые пациенты составляли только 13,4 % всех больных МВ, а в 2013 г. – 26,6%. За период исследования с 2004 по 2013 гг. отмечено также увеличение среднего возраста взрослых пациентов с МВ с 19,9 лет до 24,0 лет.

Используя данные отечественной и зарубежной литературы, были изучены причины развития КФ, рассмотрены принципы работы технологии CRISPR/CAS 9, её основные преимущества и недостатки в терапии КФ.

Ген CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), ответственный за КФ, расположен в длинном плече седьмой хромосомы (7q31,2). В настоящее время описано более 2 000 мутаций и свыше 200 полиморфизмов в гене МВ. Самая частая мутация — F508del (делеция фенилаланина в положении 508). 70% пациентов гомозиготны по этой мутации (присутствует в обеих копиях гена CFTR), а у 90% есть хотя бы один мутантный аллель. Мутации в гене CFTR ведут к дисфункции хлорного канала, что нарушает нормальное функционирование эпителия легких, кишечника, протоков поджелудочной железы, яичников, потовых желез. В итоге наблюдается сгущение и затруднение эвакуации секретов экзокринных желез, функциональная недостаточность, фиброз пораженных органов.

На сегодняшний день показана возможность использования системы CRISPR/Cas 9 для редактирования генома. В систему CRISPR/Cas 9 входят два компонента: молекула, известная как «однонаправленная РНК» (sgRNA), являющаяся химерным гибридом последовательности, комплементарной искомому участку ДНК (сРНК), и молекулы tracrRNA, необходимой для фолдинга Cas9, а также сама нуклеаза Cas9. Эта система может быть использована для создания точечных двунитевых разрывов в геноме, близком к мутации, репарируемых либо путем гомологичного направленного восстановления, либо путём негомологичного восстановления. Однако в экспериментах *in vivo* была доказана высокая нецелевая активность системы. Нецелевая активность CRISPR/Cas9 обусловлена тем, что данная система способна вносить двунитевые разрывы в ДНК-мишень, не полностью комплементарную sgRNA.

В качестве эксперимента (Эрик Алтон и др., 2015) для определения терапевтического потенциала системы CRISPR/Cas9 была произведена выборка из 116 пациентов с МВ среди жителей Лондона и Эдинбурга. Группа исследуемых (62 пациента) раз в месяц с помощью ингаляции вдыхали препарат, содержащий плазмиды, включавшие здоровую версию гена CFTR. Другая контрольная группа (54 исследуемых) в течение года принимали плацебо в виде ингаляций 0,9% раствора хлорида натрия. Через год генетической терапии группа пациентов, получавшая инновационный препарат, показала 3%-ое улучшение состояния легких, при этом функционирование легких не ухудшалось. Состояние испытуемых, не проходивших генную терапию, за тот же период времени ухудшилось на 3-4%.

Таким образом, перспективным решением проблемы терапии муковисцидоза может стать использование технологии CRISPR/Cas9. Однако на сегодняшний день не удалось добиться эффективного лечения МВ при помощи генных технологий. Процент пациентов, у которых проявлялся терапевтический эффект – 3%. Одним из главных минусов технологии CRISPR/Cas9 является высокий уровень нецелевой активности.