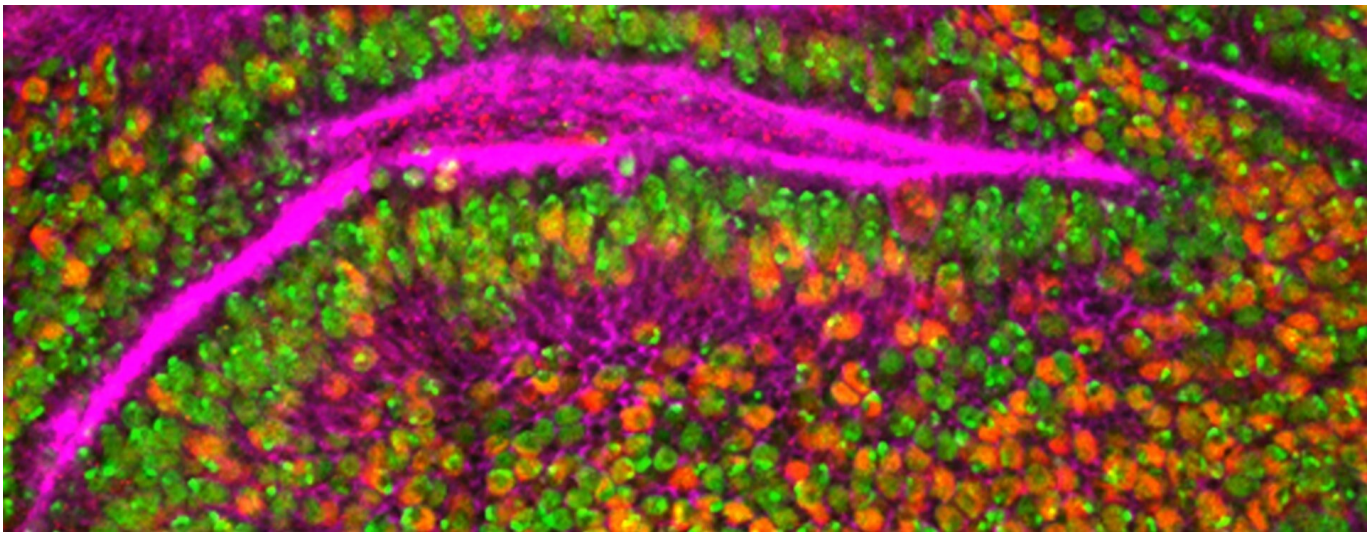


Terapia genowa i poradnictwo genetyczne

- Wprowadzenie
- Przeczytaj
- Audiobook
- Sprawdź się
- Dla nauczyciela

Terapia genowa to leczenie choroby genetycznej spowodowanej mutacją genu, który znajduje się na DNA.
Źródło: geralt, Pixabay, domena publiczna.

W latach 60. XX w. prof. Wacław Szybalski, genetyk i biotechnolog, wraz z żoną dr Elizabeth Szybalski dokonali przełomowych badań w zakresie genetyki i biologii molekularnej. Do ich największych osiągnięć należy m.in. opracowanie selekcyjnej pożywki HAT do hodowli komórek, która umożliwiła opracowanie metody produkcji przeciwciał monoklonalnych. Państwo Szybalscy wykorzystali ją do przeprowadzenia pierwszej w historii transformacji genetycznej komórek ludzkich. Były to pionierskie badania dotyczące wprowadzenia informacji genetycznej (DNA) do komórek eukariotycznych. Przyczyniły się one do rozwoju terapii genowych.

Twoje cele

- Wyjaśnisz istotę terapii genowej.
- Przedstawisz przykłady zastosowania terapii genowej.
- Omówisz perspektywy i zagrożenia terapii genowej.
- Przeanalizujesz sytuacje, w których zasadne jest korzystanie z poradnictwa genetycznego.

Przeczytaj

Terapia genowa

Prace w laboratorium nad metodami wprowadzania fragmentów DNA do komórek eukariotycznych. Lata 50. XX w.

Źródło: National Cancer Institute, Unsplash, domena publiczna.

Ratunkiem dla ludzi dotkniętych chorobami genetycznymi jest **terapia genowa**. Polega ona na wprowadzeniu obcego kwasu nukleinowego do komórek chorego pacjenta w celach terapeutycznych.

Celem terapii genowej jest naprawienie bezpośredniej przyczyny choroby genetycznej poprzez:

- wprowadzenie nowego genu do organizmu, aby wspomóc go w walce z chorobą;
- wprowadzenie do komórek prawidłowej kopii genu, którego defekt wywołuje chorobę;
- dezaktywację genu, który działa nieprawidłowo;
- spowodowanie, że komórka przejdzie na drogę apoptozy (programowanej śmierci).

W przypadku choroby spowodowanej obecnością nieprawidłowego genu po jego dezaktywacji następuje wprowadzenie prawidłowej kopii genu do właściwych komórek chorego za pomocą **wektorów**. Najczęściej w terapii genowej wykorzystuje się **wektory**

wirusowe. Wirus przenosi wprowadzoną uprzednio **kopię genu** do komórek docelowych, zawierających zmutowany gen. Wirusy, które stosuje się jako wektory, infekują wiele komórek, nie są jednak szkodliwe dla organizmu, ponieważ w wyniku modyfikacji genetycznych zostały pozbawione genów niebezpiecznych dla człowieka.

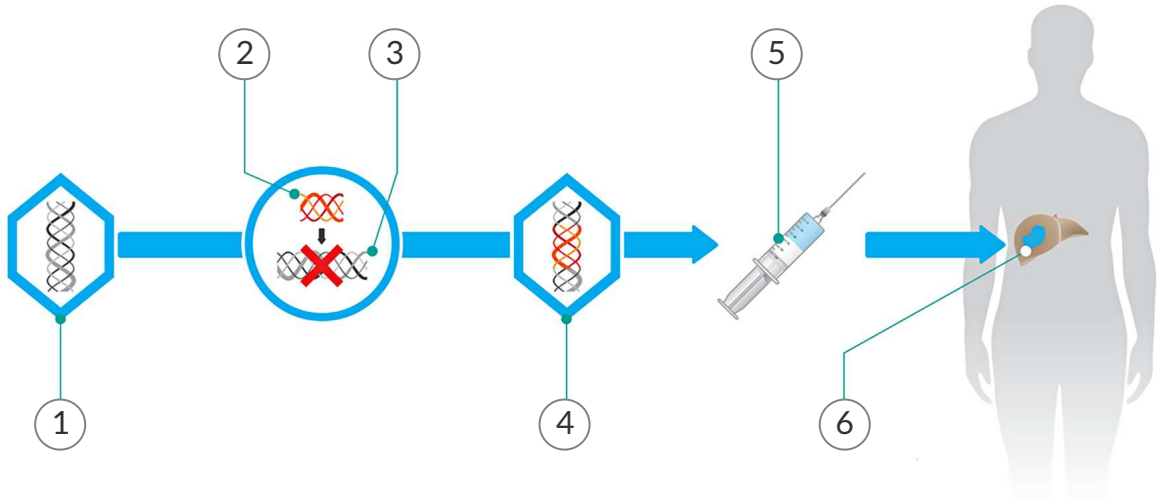
Wprowadzenie prawidłowej kopii genu do wnętrza organizmu chorego może się odbywać nie tylko za pomocą wirusów (retrowirusów, adenowirusów), ale również za pomocą systemów niewirusowych takich jak plazmidy lub DNA połączone z nośnikiem (np. lipidowym).

Plazmidy

Plazmidy to pozachromosomowe, koliste cząsteczki DNA występujące w komórkach bakterii i grzybów. Są zdolne do (niezależnej od chromosomów) replikacji w komórkach gospodarza. Dzięki możliwości wklonowania do nich wybranego genu, a następnie jego ekspresji w komórkach gospodarza, są wykorzystywane w terapiach genowych. Takie plazmidy są tanie i proste w produkcji, a ich podanie do organizmu wywołuje znikome skutki uboczne. Mają one jednak wiele ograniczeń. Jednym z nich jest bardzo mały poziom ekspresji wprowadzonego genu w komórkach biorcy. Ponadto w przypadku większości tkanek jest to metoda całkowicie nieskuteczna (można w ten sposób transformować jedynie komórki mięśni szkieletowych, kardiomiocyty oraz niektóre komórki skóry), nie można jej także stosować w transformacji komórek in vitro.

Adenowirusy

Retrowirusy



Wirus

2

Prawidłowa kopia genu – gen terapeutyczny

3

DNA wirusa

4

Do genomu wirusa zostaje wprowadzony gen terapeutyczny, który ma zostać przeniesiony do komórek chorego.

5

Wprowadzanie wektorów wirusowych do organizmu chorego.

6

Komórki chorego odczytują DNA wirusa wraz z wprowadzonym prawidłowym genem terapeutycznym. Następuje produkcja białka, którego brakowało choremu. Komórki podejmują prawidłowe funkcje.

Uproszczony schemat terapii genowej z udziałem wirusa.

Źródło: Dariusz Adryan, licencja: CC BY 3.0.

Terapię genową można przeprowadzać na dwa sposoby:

- *ex vivo* – sposób polegający na pobraniu komórek od pacjenta, wprowadzeniu do nich terapeutycznego kwasu nukleinowego i podaniu ich ponownie pacjentowi;
- *in vivo* – sposób polegający na wprowadzeniu nośnika kwasu nukleinowego bezpośrednio do organizmu pacjenta.

Więcej na temat tych metod przeczytasz w e-materiale pt. *Procedura terapii genowej*.

Historia terapii genowej

Termin „terapia genowa” został wprowadzony w 1962 r. przez **Wacława i Elizabeth Szybalskich**, którzy po raz pierwszy przeprowadzili modyfikację genetyczną komórek eukariotycznych. Dzięki wykorzystaniu roztworu fosforanu wapnia udało im się wprowadzić fragmenty DNA do ludzkich komórek szpiku. Metodę tę po raz pierwszy zastosowano w leczeniu człowieka we wczesnych latach 90. XX w. w Stanach Zjednoczonych. Leczenie dotyczyło ciężkiego niedoboru odporności spowodowanego defektem w genie *ADA* i polegało na transferze prawidłowej wersji genu do limfocytów czteroletniej pacjentki.

Zastosowanie terapii genowych

Choroby genetyczne leczone terapią genową

Najczęstszą przyczyną chorób genetycznych są **mutacje**. W ich wyniku powstają nieprawidłowo działające białka bądź w ogóle nie dochodzi do ekspresji uszkodzonych genów, a to zaburza prawidłowe funkcjonowanie organizmu.

Choroby genetyczne mogą mieć podłoże jednogenowe lub wielogenowe. Jednak obecne badania naukowców skupiają się głównie wokół stosowania terapii genowych w chorobach genetycznych wywołanych mutacjami jednogenowymi.

Za pomocą terapii genowej można leczyć takie choroby jednogenowe, jak:

- mukowiscydoza;
- ciężki złożony niedobór odporności (zespół SCID);
- choroba Huntingtona;
- wrodzona ślepota Lebera;
- rodzinna hipercholesterolemia;
- rdzeniowy zanik mięśni u dzieci.

Mukowiscydoza

Terapia genowa jest stosowana m.in. w leczeniu mukowiscydozy. Mukowiscydoza, tj. zwłóknienie torbielowate, polega na defekcie genu CFTR, który odpowiada za zagęszczanie

śluzu w gruczołach wydzielania zewnętrznego w drogach oddechowych, trzustce i nasieniowodach. Terapia genowa mukowiscydozy polega na zastosowaniu adenowirusów. Zrekombinowane wirusy podawane są w aerozolu, ponieważ niektóre z wirusowych cząstek są zdolne do infekcji komórek dróg oddechowych.

Wady terapii polegają na:

- reakcji immunologicznej przeciwko wirusom;
- istnieniu bariery śluzowej, która blokuje integrację wirusa z komórką docelową,
- braku integracji z komórkami gospodarza.

Alternatywą jest wprowadzenie genu CFTR przez liposomy. Gen trafia do niewielu komórek, ale za to jego działanie jest długoterminowe.

Zespół SCID

We Francji w 2000 r. przeprowadzono jedne z pierwszych prób wykorzystania terapii genowych w leczeniu dzieci cierpiących na ciężki złożony niedobór odporności (zespół SCID – ang. *severe combined immunodeficiency*). W wyniku tej choroby komórki szpiku kostnego nie produkują enzymu istotnego dla prawidłowego namnażania i wzrastania limfocytów. Prowadzi to do zagrażającego życiu obniżenia odporności organizmu. W trakcie terapii u dziesięciorga dzieci wprowadzono do komórek szpiku prawidłową wersję genu, dzięki czemu komórki te zaczęły produkować aktywny enzym. Jako wektor wykorzystano w tym przypadku retrowirusy. W ciągu dwóch lat po przeprowadzeniu terapii genowej u dziewięciorga dzieci zaobserwowano znaczącą poprawę. Niestety po dłuższym czasie u trojga rozwinęła się białaczka, co prawdopodobnie było skutkiem zastosowania nieodpowiedniego wektora.

Choroba Huntingtona

Choroba Huntingtona (dawniej pląsawica Huntingtona) to śmiertelna choroba układu nerwowego dziedziczona w sposób autosomalny dominujący. Gen IT15 odpowiedzialny za wywoływanie schorzenia znajduje się na chromosomie 4. Koduje on wytwarzanie szkodliwego białka – huntingtyny, prowadzącego do powstawania zmian w mózgu objawiających się m.in.: zaburzeniami ruchowymi, poznawczymi, lękiem, apatią, obniżonym nastrojem, drażliwością, zachowaniami obsesyjno-kompulsywnymi, bezsennością oraz wycofaniem społecznym. Przebieg choroby Huntingtona jest powolny, a objawy nasilają się stopniowo.

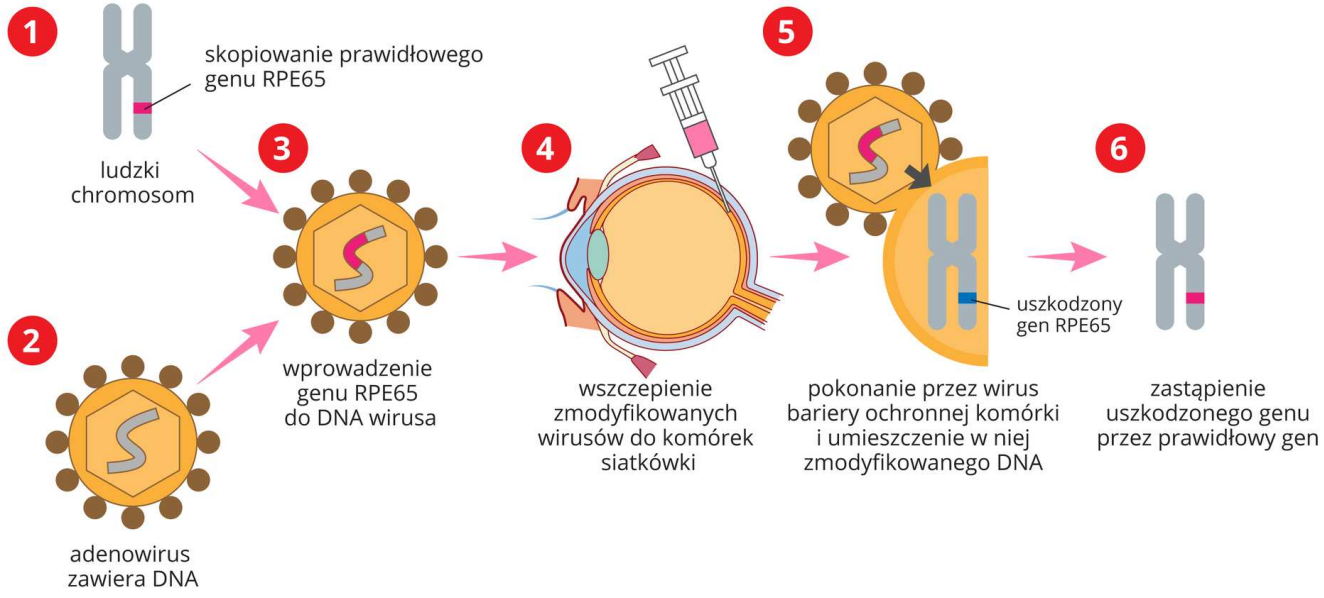
W Klinice Neurochirurgii i Urazów Układu Nerwowego CMKP w Szpitalu Bródnowskim, pod kierownictwem neurochirurga dr hab. n. med. Mirosława Ząbka (w marcu 2022 roku), zostały przeprowadzone pionierskie operacje pacjentów z chorobą Huntingtona. Ich celem było podanie chorym, za pomocą wektorów wirusowych, nieuszkodzonego genu mającego

za zadanie zablokować wadliwie działający gen – IT15 (HTT) i zatrzymać produkcję huntingtyny, dając choremu szansę na zwolnienie przebiegu choroby albo jej zatrzymanie.

Wrodzona ślepota Lebera

Wrodzona ślepota Lebera to choroba siatkówki oka. Osoby nią dotknięte cierpią na ciężkie upośledzenie wzroku, którego pierwsze objawy występują już w wieku niemowlęcym. Chorzy wykonują mimowolne ruchy gałek ocznych, wykazują wysoką wrażliwość na światło, a także charakteryzują się ekstremalną dalekowzrocznością. Choroba ta może być spowodowana mutacjami w jednym z 25 opisanych dotąd genów. W ich wyniku fotoreceptory oka przestają reagować na światło, czego skutkiem jest stopniowa utrata wzroku.

Obecnie zadaniem terapii genowych jest leczenie pewnych wybranych uszkodzeń konkretnych genów. Ich działanie jest więc zawężone do małej grupy potencjalnych pacjentów, a przy tym bardzo kosztowne. Od niedawna istnieje możliwość leczenia wrodzonej ślepoty Lebera metodą terapii genowej u pacjentów z mutacjami w genie RPE65. Lek zarejestrowano w 2017 roku pod nazwą handlową Luxturna. Celem terapii genowej jest przywrócenie działania fotoreceptorów i zahamowanie ich utraty. Do siatkówki oka pacjenta za pośrednictwem rekombinowanego wektora (np. wirusowego) wprowadzany jest funkcjonalny gen RPE65. Prowadzone są również próby kliniczne w celu opracowania podobnej terapii w odniesieniu do innych genów. Ustalenie podłoża molekularnego choroby, czyli identyfikacja mutacji powodujących chorobę, może dać szansę na skuteczne leczenie pacjentów z wrodzoną ślepotą Lebera.



Schemat somatycznej terapii genowej mającej na celu wyleczenie wrodzonej ślepoty. Podczas terapii tego rodzaju wykorzystuje się wektory wirusowe, za pomocą których w komórkach siatkówki zastępuje się uszkodzony gen prawidłowym.

Źródło: Andrzej Bogusz, licencja: CC BY 3.0.

Rdzeniowy zanik mięśni u dzieci

Główną przyczyną rdzeniowego zaniku mięśni jest mutacja genu *SMN1* znajdującego się w 5 chromosomie, który odpowiada za prawidłowe funkcjonowanie neuronów ruchowych. Rdzeniowy zanik mięśni objawia się m.in.: osłabieniem mięśni szkieletowych, niedowładem ruchowym, zaburzeniami odżywiania oraz niewydolnością oddechową.

Terapia genowa polega na podawaniu chorym leków (Zolgensma) mających na celu podniesienie poziomu białka SMN w motoneuronach. Leki te zawierają adenowirusy z wbudowanymi sekwencjami DNA odpowiadającymi genowi *SMN1*. Po podaniu leku pacjentowi wirusy „infekują" komórki organizmu, a sekwencja DNA trafia do jądra komórkowego i rozpoczyna się tworzenie brakującego białka SMN. Większa ilość tego białka sprawia, że degeneracja motoneuronów zatrzymuje się i choroba przestaje postępować. Jeśli u chorego mięśnie nie uległy jeszcze zaawansowanemu zanikowi, to w połączeniu z właściwą fizjoterapią i wielospecjalistyczną opieką medyczną zastosowanie tej terapii może choremu przynieść znaczącą poprawę.

Dużą zaletą tego leku jest szybkie rozpoczęcie działania, ponieważ podnosi poziom białka SMN w ciągu kilkudziesięciu godzin od podania (ilość tego białka staje się porównywalna z ilością u osoby zdrowej). Z tego powodu jest on wyjątkowo skuteczny w leczeniu niemowląt i małych dzieci, u których objawy SMA jeszcze się nie pojawiły albo pojawiły się bardzo niedawno, a zapotrzebowanie na białko SMN jest najwyższe. Ze względu na to, że zapewnia trwałe efekty terapii (produkcja białka w odpowiedniej ilości jest stała), stosuje się go tylko raz (w przeciwieństwie do pozostałych leków, które należy przyjmować stale). Wadą leku Zolgensma jest ryzyko wystąpienia działań niepożądanych o różnym nasileniu (m.in. obniżonej odporności, uszkodzenia mięśnia sercowego, wątroby czy nerek), dlatego jego stosowanie jest ograniczone.

Rodzinna hipercholesterolemia

Hipercholesterolemia jest przykładem choroby uwarunkowanej genetycznie. Mutacja genu *rLDL* powoduje zbyt wysokie stężenie cholesterolu we krwi, co skutkuje rozwojem miażdżycy już w dzieciństwie i wczesnej śmierci w wyniku zawału serca. Dotychczas przeprowadzono jedną próbę wykorzystania terapii genowej w przypadku hipercholesterolemii. U pięciorga pacjentów wyizolowano fragment wątroby i *in vitro* wprowadzono do hepatocytów wektor z prawidłowym genem *rLDL*. U wszystkich osób zaobserwowano ekspresję genu *rLDL* i obniżenie stężenia cholesterolu we krwi.

> **Dla zainteresowanych**

> Coraz częściej podejmuje się również próby stosowania terapii genowych w leczeniu **chorób nabytych**, np. AIDS, nowotworów, chorób infekcyjnych czy układu krążenia, a także **wspomagająco** w przypadku mutacji wielogenowych.

Zagrożenia i szanse terapii genowej

Zagrożenia

Pomimo sukcesów terapia genowa wciąż niesie ze sobą pewne ryzyko. Materiał genetyczny wirusów wykorzystywanych w terapii łatwo ulega **mutacjom**, dlatego zmodyfikowany wirus może się stać niebezpieczny. Wprowadzone wirusy mogą także wywołać **niepożądaną reakcję układu odpornościowego** i w efekcie spowodować stan zapalny, a nawet niewydolność narządów. Ponadto w terapii tej nie jest możliwa kontrola miejsca wbudowania materiału genetycznego, co może skutkować **zmianą innych istotnych funkcji komórki**. Ograniczeniami terapii genowej są także jej **wysokie koszty** i niestety **niska efektywność kliniczna** – ocenia się, że tylko 1 na 10 podjętych prób leczenia przynosi rzeczywiste efekty terapeutyczne.

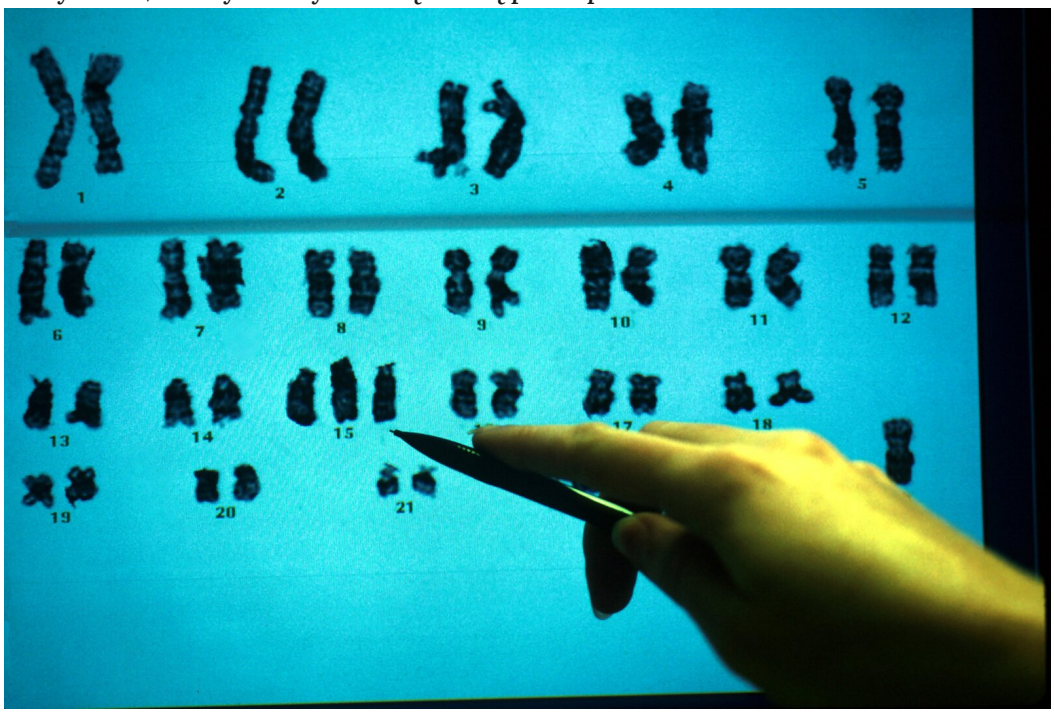
Szanse

Istnieją realne szanse, że terapia genowa będzie wykorzystywana w **leczeniu pacjentów nowotworowych**. W tym wypadku nie jest konieczna długa ekspresja genu w komórkach, a główna wada większości wektorów – odpowiedź immunologiczna organizmu w stosunku do komórek nowotworowych – jest cechą oczekiwaną.

W dalszym ciągu dużym wyzwaniem pozostaje **leczenie chorób genetycznych**. Wymagają one wysokiego bezpieczeństwa stosowanych preparatów oraz długotrwałej ekspresji DNA terapeutycznego. W tym przypadku obiecujące jest wykorzystanie wektorów, które umożliwiają wprowadzenie genu w ściśle określone miejsce w genomie pacjenta.

Poradnictwo genetyczne

Poradnictwo genetyczne polega na **oszacowaniu prawdopodobieństwa pojawienia się choroby** u osób obciążonych rodzinnie lub u potomstwa takich osób. Pomocą obejmowani są pacjenci chorujący na nowotwory, obciążeni chorobami genetycznymi lub mający wrodzone wady rozwojowe, a także ich rodziny. W ramach konsultacji sprawdzana jest rodzinna historia medyczna i dokumentacja medyczna oraz zlecane są odpowiednie badania genetyczne, których wyniki są następnie poddawane analizie.



Przegląd wyników badań chromosomów.

Źródło: The U.S. National Archives, domena publiczna.

Istnieją różne metody oceny ryzyka wystąpienia choroby genetycznej. Doradcy genetyczni mogą obliczyć **prawdopodobieństwo przekazania potomstwu allelu** odpowiedzialnego za chorobę, wykorzystując w tym celu genetykę mendlowską i rachunek prawdopodobieństwa. Przeprowadzane są również testy genetyczne, które pozwalają zidentyfikować allel warunkujący daną chorobę i ocenić jej nosicielstwo u osób niewykazujących objawów. Dzięki temu osoby, które okazują się nosicielami wadliwego allelu, mają możliwość świadomie zdecydować o przyszłym rodzicielstwie.

Gdzie można skorzystać z poradnictwa genetycznego?

Osoby obciążone genetycznie, czyli osoby, u których w rodzinie odnotowano przypadki pojawienia się mutacji, są narażone na rozwinięcie się danego schorzenia w przyszłości, a także występuje u nich ryzyko przekazania wadliwych genów potomstwu. W związku z tym osoby takie powinny się udać do specjalistycznej placówki zajmującej się

poradnictwem genetycznym. Dzięki ścisłej współpracy genetyków, cytogenetyków i biologów molekularnych w takich ośrodkach możliwe jest zdiagnozowanie wielu chorób, zwłaszcza występujących bardzo rzadko. Pamiętajmy jednak, że każdy lekarz ma podstawową wiedzę dotyczącą poradnictwa genetycznego. W prostszych przypadkach powinien udzielić porady, natomiast w trudniejszych – skierować pacjenta do odpowiedniej placówki.

> **Ważne!**
>
> W Polsce w 2022 r. znajdowało się 26 placówek specjalizujących się w poradnictwie genetycznym.

Badania prenatalne

Badania prenatalne wykonuje się w trakcie ciąży, aby ocenić stan zdrowia płodu. Umożliwiają one rozpoznanie wad wrodzonych oraz chorób genetycznych u dziecka już na początkowym etapie ciąży. W tym celu lekarz pobiera **płyn owodniowy** i na podstawie jego składu chemicznego oszacowuje prawdopodobieństwo wystąpienia niektórych chorób. Przeprowadzana jest również **biopsja kosmówki**, z której komórek izoluje się materiał genetyczny do przeprowadzenia badań. W dokładnej ocenie stanu rozwijającego się płodu i diagnostyce wad genetycznych pomocna jest także nowoczesna **ultrasonografia**.

Ponadto oszacowanie ryzyka niektórych chorób genetycznych umożliwiają nowoczesne testy polegające na analizie pobranej od matki krwi obwodowej, w której znajdują się śladowe ilości DNA płodu.

Słownik

> **gen**
>
> (gr. *génos* – ród, pochodzenie, gatunek); fragment DNA (lub, u niektórych wirusów, RNA) kodujący określone białko lub RNA
> ***ex vivo***
>
> termin odnoszący się do terapii, badań, procedur itp. przeprowadzanych poza organizmem żywym
> ***in vivo***
>
> termin odnoszący się do terapii, badań, procedur itp. przeprowadzanych wewnątrz organizmu żywego
> **retrowirusy**

rodzina wirusów wykorzystujących enzym odwrotną transkryptazę, która katalizuje przepisanie informacji genetycznej wirusa z RNA na DNA

zespół SCID

ciężki złożony niedobór odporności; choroba związana z mutacjami w genach warunkujących aktywność limfocytów T lub B, co prowadzi do znacząco zmniejszonej lub całkowicie zniesionej odpowiedzi immunologicznej

Audiobook

Audiobook można wysłuchać pod adresem: https://zpe.gov.pl/b/PZ8geFH15

Terapia genowa i poradnictwo genetyczne

Co to jest terapia genowa?

Terapia genowa to innowacyjna metoda leczenia, która polega na wprowadzeniu do komórek pacjenta obcego DNA lub RNA, nazywanego terapeutycznym DNA bądź RNA. Wprowadzony do organizmu materiał genetyczny zastępuje uszkodzony przez mutację gen i produkuje brakujące do tej pory białko, hamuje ekspresję wadliwego genu, który kodował nieprawidłowe białko lub niszczy określone komórki (na przykład nowotworowe). Terapia genowa jest stosowana w leczeniu niektórych chorób genetycznych, np. mukowiscydozy i rdzeniowego zaniku mięśni. Stosuje się ją także w nieuleczalnych chorobach niemających podłoża genetycznego, np. w krytycznym niedokrwieniu kończyn.

Jakie są metody terapii genowych?

Geny terapeutyczne można dostarczyć do komórek gospodarza na dwa sposoby: *in vivo* i *ex vivo*. Pierwsza z metod, *in vivo,* polega na wprowadzeniu prawidłowych genów do komórek znajdujących się w organizmie, druga zaś – *ex vivo* – do komórek znajdujących się poza organizmem. Zastosowanie metody *in vivo* wymaga użycia molekularnych wektorów, które wprowadza się do naczyń krwionośnych, mięśni lub guza nowotworowego. Z kolei przy pomocy metody *ex vivo* najpierw pobiera się z organizmu dany rodzaj komórek (np. szpiku), które następnie są modyfikowane genetycznie, czyli wprowadza się do nich prawidłowe DNA lub RNA, a następnie z powrotem wprowadza do organizmu. Przykładem terapii *in vivo* jest terapia stosowana w rdzeniowym zaniku mięśni (SMA) spowodowanym niedoborem białka SMN. Działanie tej terapii polega na dostarczeniu bezpośrednio do organizmu, za pomocą adenowirusów, funkcjonalnej kopii genu SMN1, która zwiększa stężenie białka SMN w motoneuronach. Przykładem terapii *ex vivo* jest lek stosowany w leczeniu choroby krwi, talasemii, którego istotny element stanowią pobrane ze szpiku kostnego pacjenta komórki macierzyste. Po tym, jak przekształcają się one w czerwone płytki krwi, są hodowane w laboratorium wraz z lentiwirusem, który zawiera zdrową wersję genu beta-globiny. Zakażane przez niego komórki zawierające gen leczniczy są wstrzykiwane do krwiobiegu pacjenta.

Rodzaje terapii genowej

W zależności od rodzaju komórek, które są poddawane terapii genowej, wyróżnia się somatyczną lub germinalną terapię genową. Terapia germinalna dotyczy komórek rozrodczych lub komórek w początkowym stadium zarodkowym. Pozwoliłaby ona na całkowite usunięcie defektu genetycznego, jednak, ponieważ efekt modyfikacji genetycznej byłby dziedziczny, taki rodzaj terapii budzi poważne wątpliwości natury etycznej. Wywołuje między innymi obawy przed wykorzystaniem w stosunku do komórek rozrodczych zdobyczy inżynierii genetycznej w celach innych niż terapeutyczne. Dlatego obecnie terapia germinalna jest prawnie zakazana i stosuje się jedynie terapie somatyczne dotyczące komórek somatycznych. Terapie somatyczne nie mają wpływu na cały genom pacjenta, a ich efekty nie są dziedziczone. Gen wprowadzony dzięki takiej terapii ma w założeniu ulec ekspresji w wybranym obszarze, czyli produkować prawidłowe, potrzebne organizmowi białko lub hormon. Inne możliwości tej terapii to m.in. wprowadzenie genu, którego produkty doprowadzą do śmierci komórki nowotworowej lub zahamują jej wzrost. Nośnikami, za pomocą których geny terapeutyczne są wprowadzane do organizmu pacjenta, są wektory.

Wektory stosowane w terapii genowej

Podstawowy podział obejmuje wektory wirusowe i niewirusowe. Najczęściej wykorzystywanymi wektorami wirusowymi są adenowirusy i retrowirusy. Z wektora wirusowego usuwa się geny, które warunkują proces chorobotwórczy, wprowadza się za to gen wraz z sekwencjami promotorowymi i regulującymi jego ekspresję. Wirusy pozwalają na najbardziej skuteczne wprowadzenie transgenów i najbardziej wydajną ekspresję. Najskuteczniejsze spośród nośników wirusowych są wektory adenowirusowe (AdV). Wprowadzany przez nie DNA nie wbudowuje się do chromosomów gospodarza, lecz pozostaje w jądrze w formie episomalnej (niezintegrowanej z genomem). Z kolei do wektorów niewirusowych należą m.in. plazmidowe DNA, niemające zdolności do replikacji. Wielką zaletą wektorów plazmidowych jest łatwość i niski koszt produkcji na szeroką skalę. Drugie kryterium podziału wektorów to zdolność do pozostawania, czyli retencji, wektorów w jądrze komórkowym. Zgodnie z tą klasyfikacją wektory dzieli się na niemające zdolności do retencji, na wektory integrujące do chromosomów i na wektory pozostające jako pozachromosomowe elementy na terenie jądra.

Wyzwania stojące przed terapiami genowymi

Wprowadzenie genu terapeutycznego za pomocą wektorów niesie pewne, w miarę postępu technologicznego coraz mniejsze, ryzyko dla pacjenta, ponadto nie zawsze jest skuteczne i trwałe.

Jedną z przyczyn takiego stanu rzeczy jest fakt, że zastosowane *in vivo* wektory wirusowe mogą zostać zniszczone przez przeciwciała przeciwko wirusom stosowanym jako nośniki, jeśli wcześniej doszło do infekcji nimi. Dla przykładu, ludzie są naturalnymi gospodarzami wirusa AAV (towarzyszącego adenowirusom) typu dzikiego. Jeżeli organizm pacjenta wytworzył przeciwciała przeciwko temu wirusowi, zastosowanie terapii genowej z jego udziałem nie jest możliwe. Dlatego też np. onasemnogen abeparwowek można podać tylko raz - przy kolejnym podaniu przeciwciała byłyby gotowe do zniszczenia nośników. Aktywowanie odpowiedzi immunologicznej organizmu zmniejsza trwałość terapii genowej. Na przykład adenowirusy są silnie immunogenne, a w wysokich dawkach również cytotoksyczne. Dlatego naukowcy poszukują przyczyn, dla których wektory terapii genowej są immunogenne, pracują też nad rozpoznaniem sygnatur molekularnych odpowiedzi immunologicznej i nad opracowaniem strategii zablokowania takich odpowiedzi.

Ponadto konstruowanie wektorów na bazie retrowirusów stwarza ryzyko wbudowania transgenu w przypadkowym miejscu. Konsekwencją mutacji insercyjnych podczas integracji do genomowego DNA mogłoby być przerwanie istotnych sekwencji kodujących. Nad większą przewidywalnością i trwałością efektów terapii genowej pracuje m.in. polski zespół naukowców pod kierunkiem Jacka Jemielitego. Przedmiotem ich zainteresowania jest mRNA, bowiem, jak uzasadniają:

"Od lat podejmowano próby dostarczania informacji genetycznej w postaci DNA, jednak aby tak dostarczona informacja mogła ulec odkodowaniu w komórkach, musi zostać włączona do genomu pacjenta. Proces ten jest trudny do kontrolowania i może prowadzić do przerwania genów ważnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmów. W związku z tym od kilkunastu lat uwaga niektórych badaczy zwraca się w kierunku innego nośnika informacji genetycznej, informacyjnego RNA (mRNA). Terapeutyczne cząsteczki mRNA są przepisem na konkretne białko i działają od razu po wprowadzeniu do komórki (nie ulegają włączeniu do genomu). Po spełnieniu swej roli jako matryca do syntezy białka, cząsteczki mRNA ulegają degradacji. Zatem dostarczenie informacji genetycznej w postaci mRNA nie ingeruje w nasz genom, co jest podejściem bardziej bezpiecznym. Niestety, mRNA to cząsteczka o wiele bardziej nietrwała niż DNA zarówno w warunkach komórkowych, jak i pod względem chemicznym, co jest jednym z głównych problemów w rozwijaniu terapii opartych o mRNA."

Brak trwałości mRNA w terapiach genowych może być jednak również poważną zaletą. Terapię genową wykorzystuje się bowiem również do produkcji szczepionek przeciw chorobom wirusowym. Jak działają szczepionki oparte na mRNA? Najpierw do organizmu pacjenta wstrzykiwane są fragmenty mRNA wirusa. Następnie komórki

organizmu używają tego mRNA jako matrycy do produkcji białka wirusowego. W dalszej kolejności nasz system odpornościowy wytwarza przeciw niemu odpowiedź immunologiczną. W ten sposób nie stwarza się ryzyka infekcji dla organizmu (ponieważ produkowane jest tylko jedno białko wirusa), nie ma też możliwości wpływania na nasz genom, ponieważ mRNA nie wnika do jądra komórkowego. Cząsteczka RNA po stworzeniu białka zostaje zdegradowana.

Naukowcy dzielą się na zwolenników stosowania w terapiach genowych wektorów wirusowych i na tych, którzy twierdzą, że stosowanie takich wektorów jest ryzykowne. Ci drudzy poszukują innych metod wprowadzania do organizmu genu terapeutycznego, np. DNA w plazmidach czy mikro RNA (miRNA). Cząsteczki te ingerują w ekspresję genów na poziomie posttranskrypcyjnym lub translacyjnym. Zaletami metod niewirusowych są większe bezpieczeństwo, możliwość przenoszenia genów o dużych rozmiarach, mniejsza toksyczność i łatwość produkcji. Dodatkowo niewirusowe wektory można modyfikować ligandami w celu specyficznego ukierunkowania dla tkanki lub komórki, co jednak komplikuje ich produkcję i zwiększa jej koszt. Wadą wektorów niewirusowych jest niewielka ekspresja transgenów.

Przyszłość terapii genowych

Wykrycie mutacji genetycznej odpowiadającej za chorobę to pierwszy krok do podjęcia skutecznego leczenia. Obecnie znanych jest wiele mutacji odpowiadających za choroby genetyczne. Diagnostyka polega więc na poszukiwaniu najbardziej prawdopodobnych mutacji u pacjenta z podejrzeniem choroby genetycznej. W tym celu skanuje się jeden gen, wybrane geny lub nawet cały genom chorego. Na wyniki trzeba czekać około kilkunastu tygodni. Jednak niedawno w zakresie diagnostyki genetycznej nastąpił przełom. W 2022 roku naukowcom ze Stanford University School of Medicine udało się znacznie przyspieszyć czas sekwencjonowania genomu – do średnio ośmiu godzin. Należy się więc spodziewać, że w przyszłości krótszy czas oczekiwania na wynik diagnozy stanie się normą, a skanowanie całego genomu będzie mniej kosztowne.

Niestety, za rekordowym rozwojem technik wykrywania wadliwych genów nie nadąża postęp w zakresie terapii genowych – liczba znanych mutacji jest znacznie większa niż liczba dostępnych terapii, których do tej pory zarejestrowano kilkanaście. Toczą się jednak badania nad tysiącami kolejnych. Naukowcy testują terapie w kolejnych chorobach, a zarazem doskonalą ich metody, mając na uwadze zwiększenie bezpieczeństwa i skuteczność terapii.

Na czym polega poradnictwo genetyczne?

Poradnictwo genetyczne to rodzaj specjalistycznej opieki zdrowotnej. Wydawanie porady przez specjalistę genetyka przebiega w dwóch etapach. Najpierw następuje rozpoznanie choroby genetycznej lub mutacji, która może ją spowodować (bądź ich wykluczenie), następnie zaś – udzielenie prognozy genetycznej. Prognoza genetyczna zawiera informacje na temat ryzyka wystąpienia danej choroby i możliwości jej zapobiegania, a jeśli choroba została rozpoznana, pacjent otrzymuje wskazówki dotyczące rokowania i terapii. Często impulsem do zgłoszenia się na wizytę w poradni genetycznej jest zdiagnozowanie poważnej choroby dziedzicznej, np. raka piersi, w rodzinie pacjenta. U osób z takim wywiadem rodzinnym wykonuje się badania genetyczne. Przykładowo, wykrycie mutacji genów BRCA1 i BRCA2 wiąże się z bardzo dużym ryzykiem zachorowania na nowotwór piersi i jajnika. Ryzyko to jest dokładnie wyliczane w przypadku każdej pacjentki. Kobiety otrzymują również dokładne informacje na temat wszelkich dostępnych metod profilaktyki tych chorób. Zapobieganie im polega przeważnie na częstszym wykonywaniu badań diagnostycznych, co pozwala wykryć nowotwór we wczesnym etapie rozwoju, kiedy prawdopodobieństwo jego skutecznego wyleczenia sięga stu procent.

Bardzo istotną kwestią jest również poradnictwo genetyczne dla osób planujących posiadanie potomstwa. Wykonanie przez parę badań genetycznych pozwala określić, czy u ich dzieci zachodzi większe ryzyko wystąpienia choroby genetycznej. Takie ryzyko należy podejrzewać w sytuacji, kiedy często występują poronienia, na świat przyszło już dziecko z wadą wrodzoną, wada wystąpiła u innego członka rodziny bądź kobieta planująca ciążę przekroczyła 35. rok życia. W tym wieku zaczyna bowiem gwałtownie rosnąć ryzyko wad genetycznych u potomstwa, m.in. zespołu Downa i Patau'a. Kobieta zgłaszająca się po poradę może liczyć nie tylko na prognozę ryzyka rozwoju choroby genetycznej u jej dziecka, lecz także na zalecenia zwiększające szanse na uniknięcie tej choroby. Porada genetyczna umożliwia również podjęcie takich działań jak odstąpienie od rodzicielstwa przy dużym ryzyku wystąpienia poważnych chorób genetycznych u dziecka lub przygotowanie się na ewentualne następstwa choroby genetycznej.

Jeśli choroba genetyczna już występuje, jej diagnoza jest podstawą dalszego postępowania terapeutycznego. Wiele chorób genetycznych wykrywa się w życiu płodowym lub tuż po urodzeniu, choć czasami, przy mało charakterystycznych objawach, diagnostykę przeprowadza się znacznie później.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o. o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Polecenie 1

Wymień i krótko scharakteryzuj rodzaje i metody terapii genowej.

Polecenie 2

Sformułuj własną opinię dotyczącą szans i zagrożeń związanych ze stosowaniem terapii genowej u ludzi.

Sprawdź się

Pokaż ćwiczenia:

Ćwiczenie 1

Uzupełnij poniższy tekst tak, aby przedstawiał prawdziwe informacje. W każdym zdaniu wybierz właściwe określenie.

Terapia genowa stosowana jest w leczeniu chorób [autoimmunologicznych / genetycznych], wywołanych przede wszystkim mutacjami [jednogenowymi / wielogenowymi]. Tego typu mutacje są przyczyną takich chorób jak mukowiscydoza czy [SCID / AIDS]. Modyfikacje genetyczne prowadzi się przede wszystkim w komórkach [bakteryjnych / macierzystych]. Terapię genową można przeprowadzić na dwa sposoby: *ex vivo* oraz [*in vitro* / *in vivo*]. Terapie genowe to [przeszłość / przyszłość] medycyny.

Ćwiczenie 2

Wybierz możliwe sposoby przeprowadzenia badań prenatalnych.

- [ ] Ultrasonografia płodu
- [ ] Pobranie płynu owodniowego
- [ ] Biopsja kosmówki
- [ ] Tomografia komputerowa jamy brzusznej

Ćwiczenie 3

Zaznacz grupę chorób jednogenowych, które można leczyć za pomocą terapii genowych.

- ○ rdzeniowy zanik mięśni u dzieci, choroby serca, choroba Huntingtona, niedoczynność tarczycy,
- ○ mukowiscydoza, zespół SCID, choroba Huntingtona, wrodzona ślepota Lebera
- ○ anemia sierpowata, mukowiscydoza, fenyloketonuria, cukrzyca
- ○ rodzinna hipercholesterolemia, nowotwór jelita grubego, cukrzyca, zespół SCID

Ćwiczenie 4

Oceń, czy podane stwierdzenia są prawdziwe czy fałszywe.

Stwierdzenie	Prawda	Fałsz
Terapia genowa to zastąpienie wadliwego genu w niektórych komórkach ciała jego prawidłową kopią.	○	○
Terapia genowa umożliwia leczenie chorób, wobec których dotychczas stosowana konwencjonalna medycyna jest bezradna lub mało skuteczna.	○	○
Terapię genową prowadzi się w odniesieniu do wszystkich komórek ciała, nie tylko tych tkanek, w których zachodzi ekspresja nieprawidłowego genu.	○	○

Ćwiczenie 5

Zaznacz wszystkie wady i zagrożenia związane z terapią genową.

- [ ] Może spowodować niepożądane reakcje ze strony układu odpornościowego.
- [ ] Może prowadzić do rozwoju miażdżycy.
- [ ] Może spowodować zakażenie wirusem, który pełni funkcję wektora.
- [ ] Może okazać się nieskuteczna.

Ćwiczenie 6

Przyporządkuj podane definicje do odpowiednich pojęć.

Wektor	Wirus wykorzystujący enzym odwrotną transkryptazę, która katalizuje przepisanie informacji genetycznej wirusa z RNA na DNA.
Liposom	Struktura pozwalająca wprowadzić prawidłową wersję genu do komórek, stosowana w inżynierii genetycznej.
Retrowirus	Pęcherzykowata struktura służąca jako nośnik substancji dostarczanych do komórek.

Ćwiczenie 7

Wyjaśnij, dlaczego w terapii genowej wykorzystuje się retrowirusy jako wektory.

Ćwiczenie 8

SMA (ang. *spinal muscular atrophy*), czyli rdzeniowy zanik mięśni, to ciężka i rzadka choroba genetyczna. Jest ona wynikiem mutacji w genie *SMN1*, odpowiedzialnym za produkcję białka SMN, niezbędnego do prawidłowego działania neuronów ruchowych. U chorych na SMA obie kopie genu *SMN1* są uszkodzone, co wiąże się ze znacznym ograniczeniem produkcji białka SMN. Zbyt niski poziom białka SMN prowadzi do utraty neuronów ruchowych w rdzeniu kręgowym i uniemożliwia otrzymywanie przez mięśnie sygnałów z mózgowia.

Oceń, czy możliwa byłaby terapia genowa w rdzeniowym zaniku mięśni. Odpowiedź uzasadnij.

Dla nauczyciela

Autor: Anna Juwan

Przedmiot: biologia

Temat: Terapia genowa i poradnictwo genetyczne

Grupa docelowa: uczniowie III etapu edukacyjnego – kształcenie w zakresie podstawowym i rozszerzonym

Podstawa programowa:

Zakres podstawowy

Cele kształcenia - wymagania ogólne

II. Pogłębianie znajomości uwarunkowań zdrowia człowieka. Uczeń:

3) rozumie znaczenie poradnictwa genetycznego i transplantologii;

4) dostrzega znaczenie osiągnięć współczesnej nauki w profilaktyce zdrowia;

Treści nauczania – wymagania szczegółowe

VIII. Biotechnologia. Podstawy inżynierii genetycznej. Uczeń:

9) przedstawia sytuacje, w których zasadne jest korzystanie z poradnictwa genetycznego;

10) wyjaśnia istotę terapii genowej;

Zakres rozszerzony

Cele kształcenia - wymagania ogólne

V. Pogłębianie znajomości uwarunkowań zdrowia człowieka. Uczeń:

4) rozumie znaczenie poradnictwa genetycznego i transplantologii;

5) dostrzega znaczenie osiągnięć współczesnej nauki w profilaktyce chorób.

Treści nauczania – wymagania szczegółowe

XV. Biotechnologia. Podstawy inżynierii genetycznej. Uczeń:

11) przedstawia sytuacje, w których zasadne jest korzystanie z poradnictwa genetycznego;

12) wyjaśnia istotę terapii genowej;

Kształtowane kompetencje kluczowe:

- kompetencje cyfrowe;
- kompetencje osobiste, społeczne i w zakresie umiejętności uczenia się;
- kompetencje matematyczne oraz kompetencje w zakresie nauk przyrodniczych, technologii i inżynierii.

Cele operacyjne (językiem ucznia):

- Wyjaśnisz istotę terapii genowej.
- Przedstawisz przykłady zastosowania terapii genowej.
- Omówisz perspektywy i zagrożenia terapii genowej.
- Przeanalizujesz sytuacje, w których zasadne jest korzystanie z poradnictwa genetycznego.

Strategie nauczania:

- konstruktywizm;
- konektywizm.

Metody i techniki nauczania:

- z użyciem komputera;
- rozmowa kierowana;
- ćwiczenia interaktywne;
- praca z audiobookiem;
- mapa myśli;
- gwiazda pytań.

Formy pracy:

- praca indywidualna;
- praca w parach;
- praca w grupach;
- praca całego zespołu klasowego.

Środki dydaktyczne:

- komputery z głośnikami, słuchawkami i dostępem do internetu;
- zasoby multimedialne zawarte w e-materiale;
- tablica interaktywna/tablica, pisak/kreda.

Przed lekcją:

1. Uczniowie zapoznają się z treścią w sekcji „Przeczytaj".

Przebieg lekcji

Faza wstępna:

1. Nauczyciel wyświetla na tablicy lub za pomocą rzutnika zawartość sekcji „Wprowadzenie". Uczniowie wspólnie z nauczycielem omawiają cele lekcji i określają kryteria sukcesu.
2. **Odwołanie do wcześniejszej wiedzy.** Nauczyciel zapisuje na tablicy następujące pytania:
   – Czym są choroby genetyczne?
   – Na czym polega terapia genowa?
   Uczniowie, pracując w parach, wspólnie przygotowują odpowiedzi na zadane pytania. Chętni wypowiadają się na forum klasy. Nauczyciel podsumowuje odpowiedzi uczniów.

Faza realizacyjna:

1. **Praca z audiobookiem „Terapia genowa w ciężkim złożonym niedoborze odporności".** Uczniowie zapoznają się z audiobookiem udostępnionym przez nauczyciela. Następnie nauczyciel dzieli uczniów na cztery grupy. Zadaniem każdego zespołu jest przygotowanie mapy myśli porządkującej informacje na temat terapii genowej i poradnictwa genetycznego. Wybrani uczniowie omawiają swoje mapy na forum. Nauczyciel ocenia poprawność każdej prezentacji, wskazuje błędy, uzupełnia brakujące informacje.
2. **Gwiazda pytań.** Nauczyciel dzieli uczniów na 4-osobowe grupy, a następnie prezentuje na tablicy interaktywnej schemat „gwiazdy pytań" (zob. materiały pomocnicze). Objaśnia uczniom, w jaki sposób powinni pracować ze schematem: na podstawie e-materiału oraz innych źródeł mają odpowiedzieć na pytania widniejące przy gwieździe.
   Nauczyciel sprawdza wykonanie zadania, podchodząc do każdej grupy. Koryguje ewentualne błędy. Wybrani przez nauczyciela uczniowie kolejno prezentują wyniki prac swojego zespołu.
3. **Utrwalenie wiedzy i umiejętności.** Uczniowie w parach wykonują ćwiczenie nr 8 (w którym mają za zadanie ocenić – na podstawie przedstawionych informacji – czy możliwa byłaby terapia genowa w rdzeniowym zaniku mięśni) z sekcji „Sprawdź się". Następnie porównują swoje odpowiedzi z najbliżej siedzącymi sąsiadami. Nauczyciel w razie trudności naprowadza podopiecznych na właściwe rozwiązania lub wyjaśnia wątpliwości.

Faza podsumowująca:

1. Uczniowie rozwiązują ćwiczenie nr 4 (typu „prawda/fałsz”) z sekcji „Sprawdź się”. Następnie przygotowują podobne zadanie dla osoby z pary: tworzą trzy prawdziwe lub fałszywe zdania dotyczące tematu lekcji. Uczniowie wykonują ćwiczenie otrzymane od kolegi lub koleżanki.
2. Zalogowany na platformie nauczyciel wyświetla na tablicy temat lekcji i cele zawarte w sekcji „Wprowadzenie”. W tym kontekście podsumowuje omówione zagadnienia.

Praca domowa:

1. Wykonaj ćwiczenia od 1 do 3 oraz od 5 do 7 z sekcji „Sprawdź się”.

Materiały pomocnicze:

- Jane B. Reece i in., „Biologia Campbella”, tłum. K. Stobrawa i in., Dom Wydawniczy REBIS, Poznań 2021.
- „Encyklopedia szkolna. Biologia”, red. Marta Stęplewska, Robert Mitoraj, Wydawnictwo Zielona Sowa, Kraków 2006.

Załącznik 1. Gwiazda pytań.
Plik o rozmiarze 75.94 KB w języku polskim

Wskazówki metodyczne opisujące różne zastosowania audiobooka:

- Audiobook można wykorzystać jako materiał służący powtórzeniu i utrwaleniu wiedzy uczniów.