

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Оренбургский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

In organisms called eukaryotes, DNA is found inside a special area of the cell called the nucleus. Because the cell is very small, and because organisms have many DNA molecules per cell, each DNA molecule must be tightly packaged. The packaged form of the DNA is called a chromosome.

Thymine (T) Histamine (H) Adenine (A) Indole

Генная терапия при тяжёлом комбинированном иммунодефиците и её механизм действия

Подготовили:
студенты 208 группы
лечебного факультета
Куракина Ю.И.
Туля О.И.
Преподаватель:
асс. Боева Т.В.

Цель: определить эффективность генной терапии при тяжёлом комбинированном иммунодефиците с ретикулярной дисгенезией

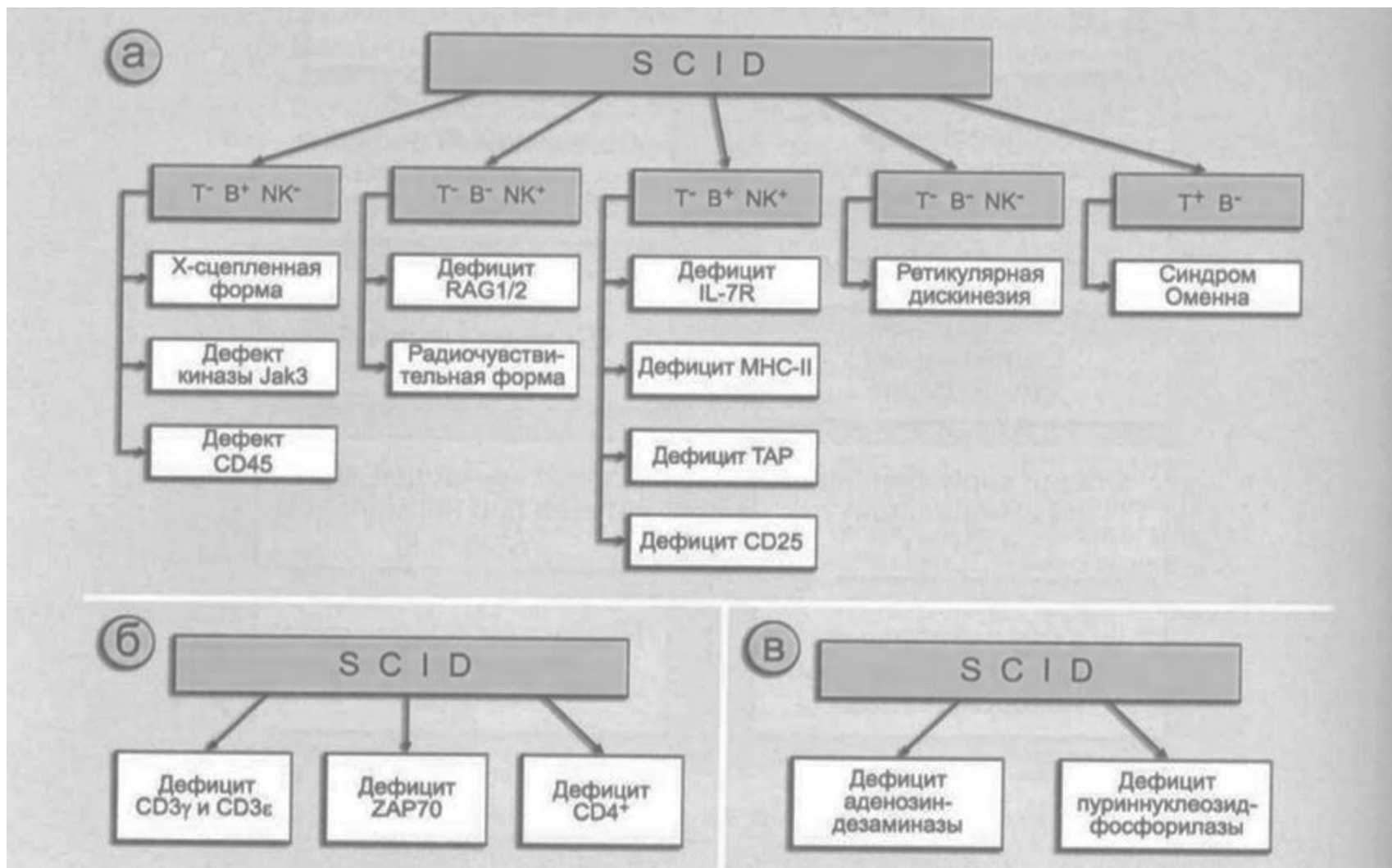
Задачи:

- Установить этиологию и патогенез данной патологии
- Описать клинические проявления
- Изучить методы диагностики
- Проанализировать механизм действия генной терапии при тяжёлом комбинированном иммунодефиците;
- Обозначить преимущества и недостатки генной терапии.

Тяжелый комбинированный иммунодефицит с ретикулярной дисгенезией (ТКИД, SCID) – ретикулярный дисгенез объединяет группу генетических дефектов, приводящих к лейкопении, нейтропении, лимфоцитопении, дефициту иммуноглобулинов.

Синонимы: алимфоцитоз, синдром Глянцмана-Риникера, синдром тяжёлого комбинированного иммунодефицита, и тимическая алимфоплазия.

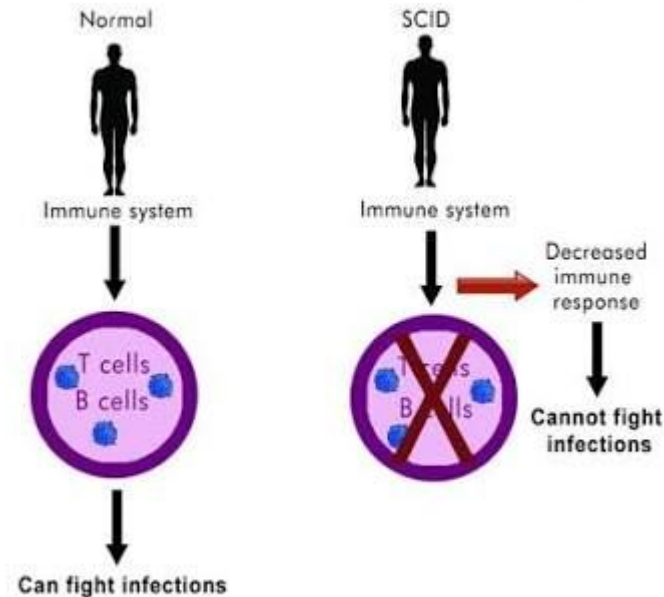
Классификация ТКИД



Общая этиология и патогенез

Дефекты различных ключевых генов, из-за чего нарушена дифференцировка и пролиферация гемопоэтической стволовой клетки в лимфоидную и миелоидную стволовые клетки; возможны дефекты СВ₃-комплекса (дзета цепи), рецепторов к интерлейкинам, дефекты передачи внутриклеточных сигналов, HLA-молекул I и II

SEVERE COMBINED IMMUNODEFICIENCY (SCID)



Клинические проявления

- Дети погибают в первые месяцы жизни от септического процесса (триада симптомов: диарея, интерстициальная пневмония, распространенный микоз слизистых, тяжелые вирусные инфекции - герпес, аденовирусы, цитомегаловирус);
- Инфицирование низковирулентными микроорганизмами (кандидозы, пневмоцисты);
- Наблюдается кореподобная сыпь с гиперпигментацией как проявление реакции материнских лимфоцитов, проникших через плаценту;
- Отставание в росте и развитии.

Диагностика

- Профилактический неонатальный скрининг с использованием теста т-рецепторных эксцизионных колец (Trec);
- Наличие персистирующих инфекций;
- Уровень лейкоцитов;
- Тесты на пролиферацию лимфоцитов в ответ на стимуляцию митогеном.
- Снижение содержания IgG, IgM, IgA в сыворотке крови

Лечение

- Обратная изоляция;
- Поддерживающее лечение, включающее заместительную терапию иммуноглобулинами, антибиотики и противогрибковые препараты;
- Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток;
- Заместительная ферментная терапия при дефиците аденозин дезаминазы (АДА);
- Генная терапия при SCID-X и ADA-SCID.

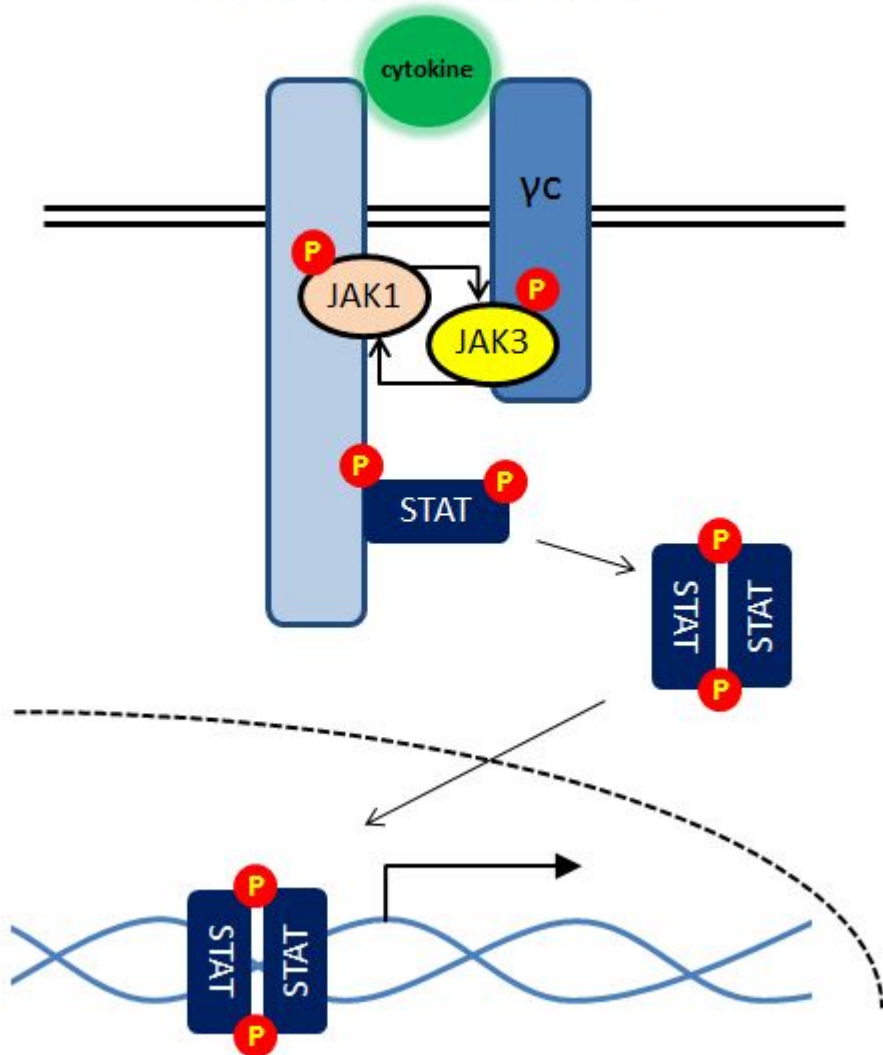
The Bubble Boy- Дэвид Филипп Веттер

- 12 лет своей жизни мальчик провёл в стерильном пузыре, куда был помещён всего через несколько секунд после рождения. Всё, что попадало в стерильный пузырь, должно было быть обеззаражено.
- В 1974 специалисты NASA разработали для Дэвида костюм, который позволил бы ему совершить прогулку за пределы пузыря.
- В попытке излечить болезнь мальчику была проведена операция по пересадке костного мозга, несмотря на неполную совместимость. К сожалению, в костном мозге донора-сестры были найдены следы спящего вируса Эпштейна-Бара. Вирус начал стремительно распространяться и прогрессировать. Дэвида пришлось извлечь из пузыря для лечения. Когда отец прямо спросил его, хочет ли он покинуть пузырь, Дэвид ответил, что согласен на что угодно, лишь бы чувствовать себя лучше. Вне пузыря его состояние продолжило ухудшаться, и он впал в кому. Тогда же его мать в первый раз в жизни смогла прикоснуться к своему сыну. Он умер 15 дней спустя, 22 февраля 1984 года. Ему было 12 лет...



X-сцепленная тяжелая комбинированная иммунная недостаточность (SCID-X)

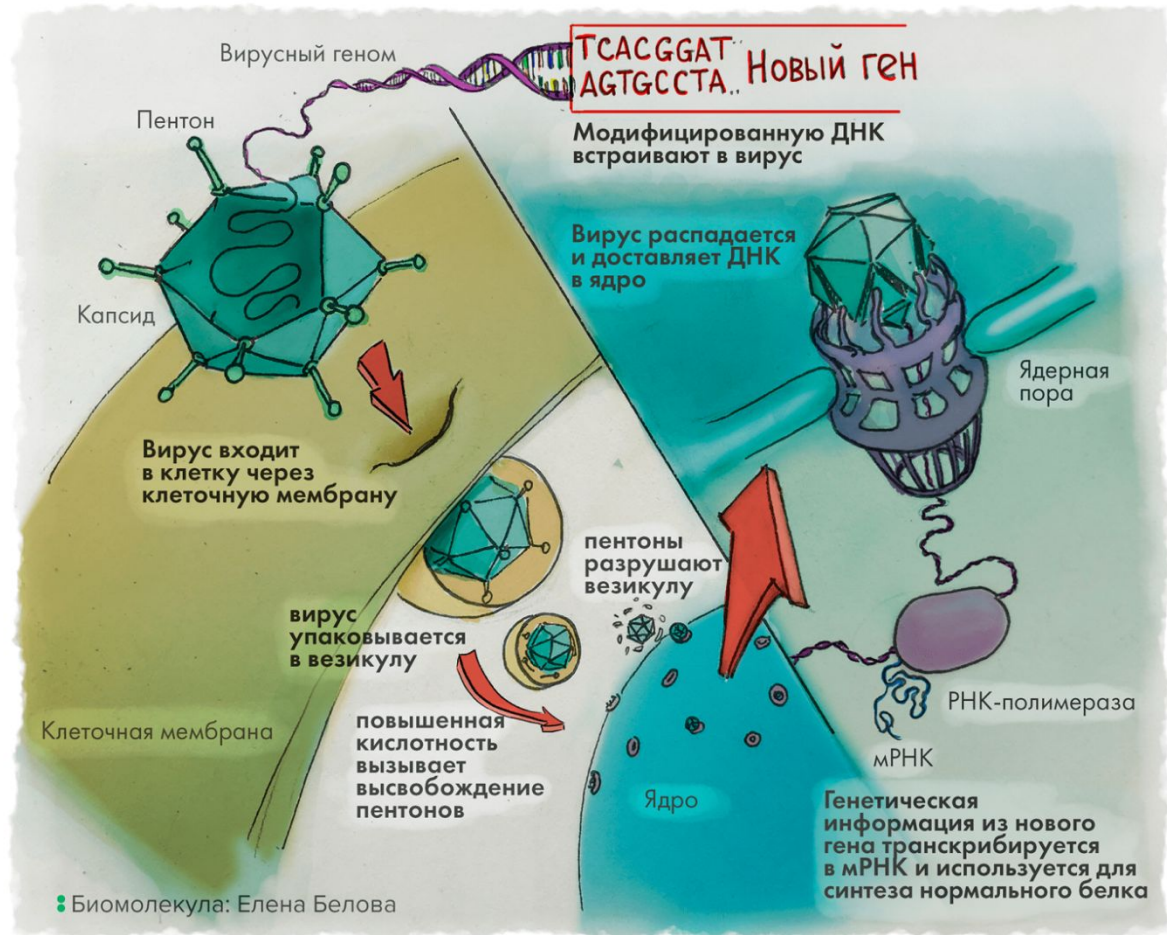
IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21



- Частота 1:100000 новорождённых (45% от всех случаев);
- Встречается только у мужчин, женщины носители гена (передают его сыну с вероятностью 50%);
- Мутация гена γ -цепи ИЛ-2R на участке Xq13.1 (молекулярный дефект открыт в 1993 г.);
- γ -цепь – общая для рецепторов ИЛ-2;ИЛ-4; ИЛ-7;ИЛ-9;ИЛ-15;ИЛ-21;
- Отсутствуют зрелые Т-лимфоциты (блок на уровне перехода DN1 в DN2 и НК-клетки, В-лимфоциты развиваются)

ТКИД с недостаточностью аденозиндезаминазы (АДА)

- Вторая по частоте причина ТКИН (15% от всех случаев);
- Наследуется как аутосомно-рецессивный признак;
- Встречается как у мальчиков, так и у девочек.
- Возникает в результате генетических дефектов фермента, участвующего в метаболизме пуринов. Накопление токсинов вредит развитию Т-клеток, В-клеток и естественных клеток-киллеров, серьезно уменьшая их количество. Если иммунная функция не восстановлена, дети с АДА-дефицитным SCID могут умереть в раннем младенчестве.



Генная терапия – это лечение наследственных, мультифакториальных и ненаследственных (инфекционных, злокачественных и др.) заболеваний путем введения генов в соматические клетки пациентов с целью направленного изменения генных дефектов или придания клеткам новых свойств.



- Исследованием применения генной терапии при SCID занимались:
- Профессор педиатрии и иммунологии Бобби Гаспар (доктор медицинских наук, Университетский колледж Лондона) и профессор микробиологии, иммунологии, молекулярной генетики и педиатрии Дональд Б. Кон (доктор медицины, Калифорнийский университет в Лос-Анджелесе)

Генная терапия SCID-X

- 10 пациентов получали терапию в среднем в возрасте 10 месяцев (самый молодой пациент лечился в 4 месяца, а самый старший - в 46 месяцев).
- Гемопозитические стволовые клетки (HSC) удаляли из каждого пациента и «восстанавливали» путем трансдукции (то есть доставки исправленных генов вирусным вектором). Каждому пациенту вливали его/ее собственные трансдуцированные HSC CD34 + и клетки-предшественники. Миелосупрессия или иммуносупрессия не применялись.

Итоги:

- все 10 детей (100%) были живы через 54-107 месяцев наблюдения и имели функционирующие поликлональные Т-клетки;
- гуморальный иммунитет (отражающий функцию В-клеток) восстановился лишь частично, но 4 пациента (40%) смогли навсегда прекратить заместительную терапию иммуноглобулином. У одного пациента (10%) развился Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз, но поликлональные Т-клетки сохранились, и он находится в стадии ремиссии после химиотерапии.

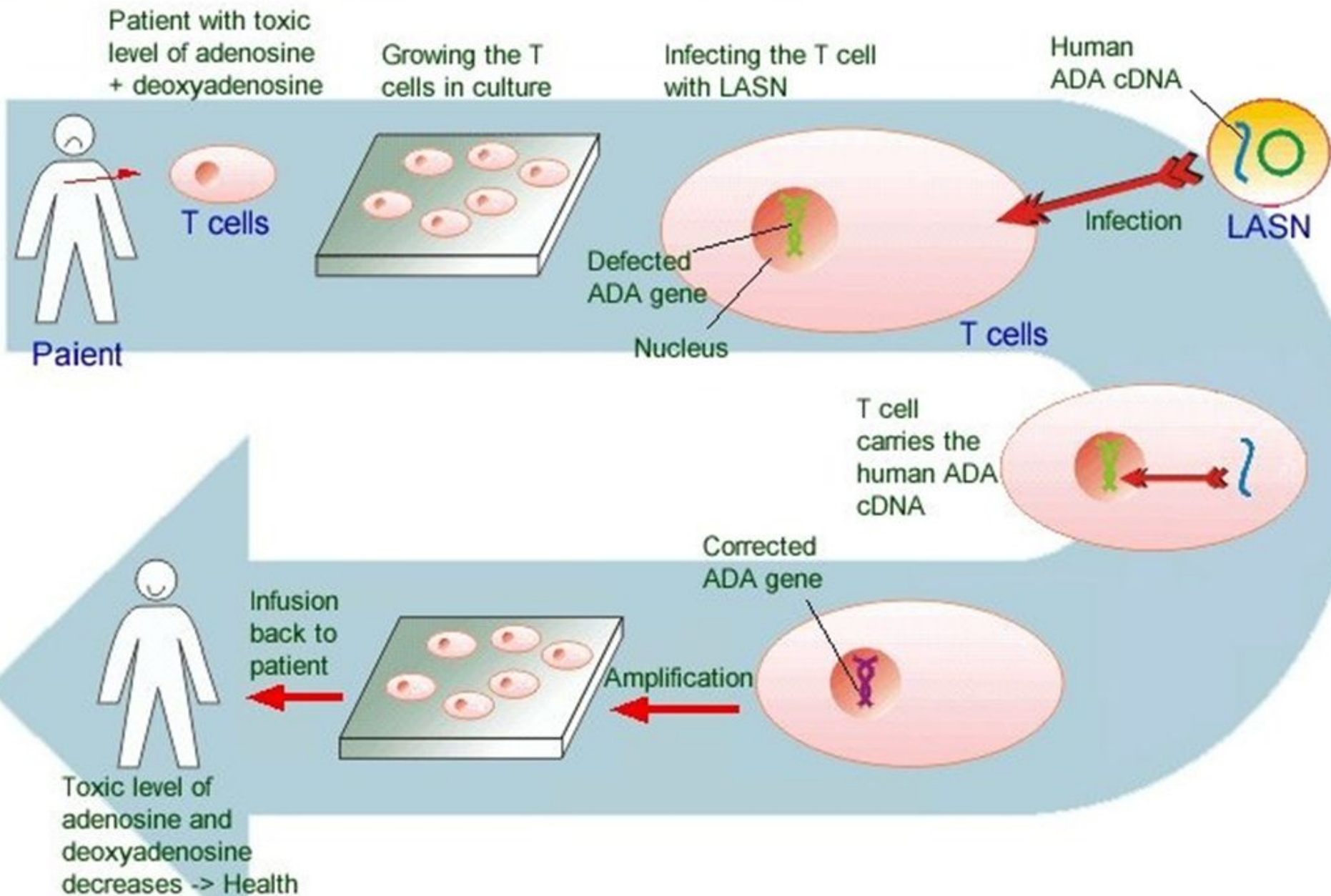
Генная терапия ADA-SCID

- Лечили 6 детей в среднем в возрасте 36 месяцев (диапазон от 6 до 39 месяцев).
- Все они ранее получали заместительную ферментную терапию (ЗФТ) и имели лишь частичное восстановление иммунной функции: количество лимфоцитов ниже $1,5 \times 10^6$ на литр и/или требовалась заместительная терапия иммуноглобулином G.
- Все 6 пациентов прекратили ЗФТ за 1–4 недели до генной терапии и «прошли мягкую химиотерапию» перед генной терапией.
- Как и в случае с пациентами с SCID-X1, вливания каждого пациента содержала его или ее собственные генетически восстановленные клетки CD34 +.

Итоги:

- все 6 детей (100%), получавших лечение от ТКИД с дефицитом ADA, были живы через 24-84 месяца наблюдения;
- четверо (66%) восстановили свою иммунную функцию, а трое (50%) не возобновили ЗФТ.
- у двух других пациентов (33%) иммунная функция не восстановилась по «причинам, связанным с конкретным заболеванием и техническим причинам», но они возобновили ЗФТ и чувствуют себя хорошо.

Gene Therapy for ADA-SCID



- Одно различие между методами лечения АДА-SCID и SCID-X1 заключается в использовании «мягкой химиотерапии» у пациентов с АДА-SCID перед генной терапией.

«Преимущество выживания для T-клеток с генной коррекцией у [пациентов с SCID-X1] настолько велико, что нет необходимости в химиотерапии. Если мы введем даже небольшое количество T-клеток, они повторно заселят компартмент T-клеток», - сказал доктор Гаспар.

Ашани Де-Сильва. Первый человек, вылеченный с помощью генной терапии

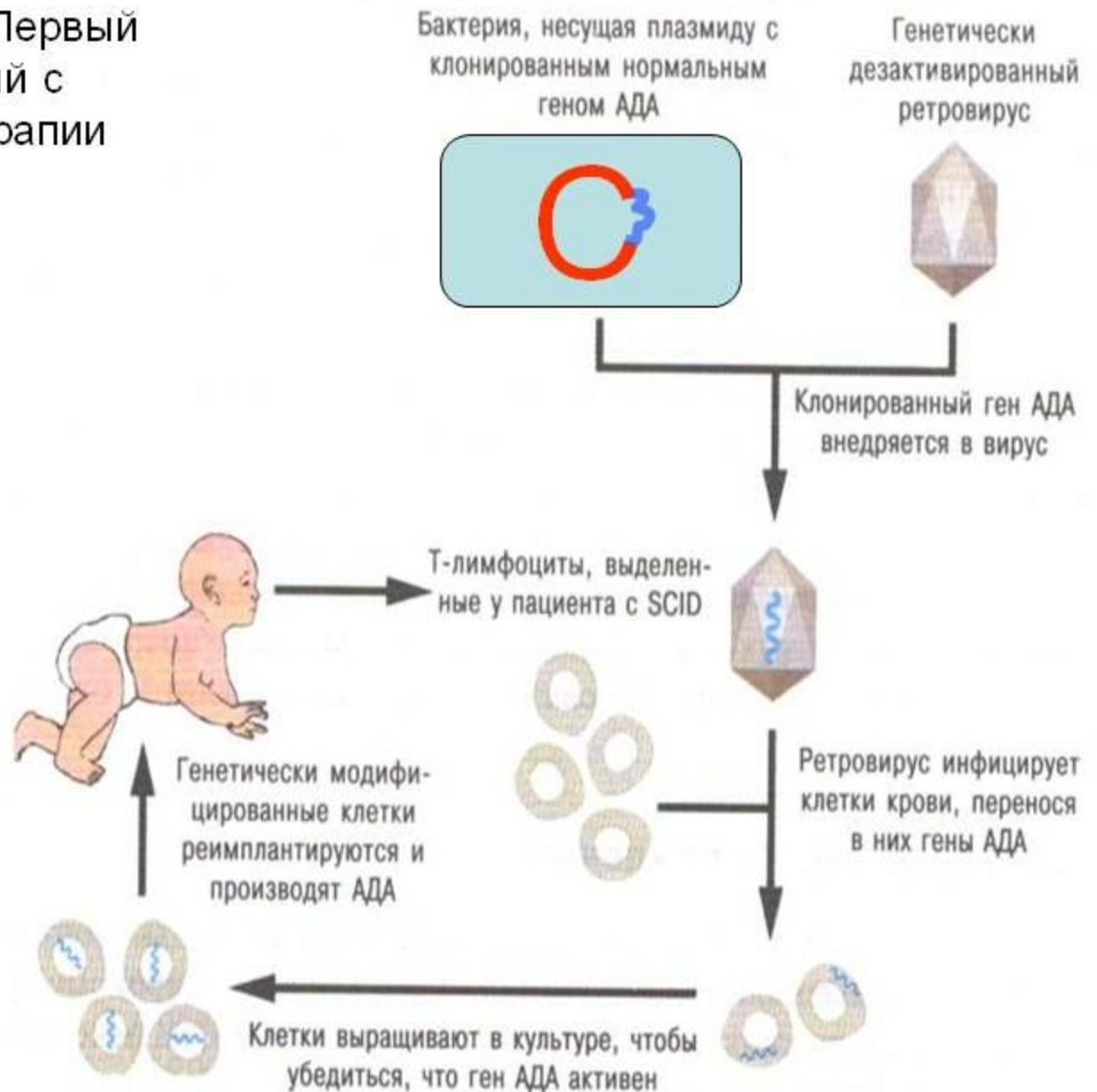


Схема генной терапии тяжелого комбинированного иммунодефицита (SCID), вызванного дефектом гена аденозиндезаминазы (АДА)

- Дональд Б. Кон обобщает историю испытаний генной терапии SCID.
- Одна тревожная проблема представляет собой «лейкозоподобную Т-лимфопротиферацию», наблюдаемую у 5 из 20 пациентов с SCID-X1 в нескольких исследованиях, но ни у одного из более чем 30 пациентов с ADA-SCID, получавших генную терапию.
- Причина может заключаться в различиях между генами, доставляемыми вирусными переносчиками: **ген, связанный с X, может обеспечивать пролиферативные сигналы, тогда как ген ADA не передает сигналов активации.** Ответы на генную терапию также имеют разные сроки: **у пациентов с SCID-X1 наблюдается быстрое увеличение популяции Т-клеток в течение нескольких месяцев, тогда как Т-лимфоцитам пациентов с ADA-SCID требуется более 18 месяцев для восстановления**

Выводы:

- Существуют 2 основные разновидности тяжелого комбинированного иммунодефицита с ретикулярной дисгенезией: X-сцепленная тяжелая комбинированная иммунная недостаточность (SCID-X) и ТКИД с недостаточностью аденозиндезаминазы (АДА), различающиеся по этиологии и патогенезу.
- Клинические проявления при обеих формах идентичны.
- В методах диагностики отличий не выявлено.
- Генная терапия, в основе действия которой лежит принцип временного введения в клетки организма пациента функциональных генов, показала свою высокую эффективность – 40% при X-сцепленной тяжелой комбинированной иммунной недостаточности и 66% при ТКИД с недостаточностью аденозиндезаминазы.
- Во время лечения X-сцепленной тяжелой комбинированной иммунной недостаточности в 10% случаев развился Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз, но поликлональные Т-клетки сохранились, и пациент находится в стадии ремиссии после химиотерапии.
- Авторы статьи заявляют, что описанные ими обобщенные результаты показывают высокий уровень безопасности и эффективности генной терапии и являются аргументом использования генной терапии как лечения первого выбора у пациентов, которым трудно провести трансплантацию костного мозга.

Список литературы

1. Новиков Д.К. Первичные иммунодефицитные болезни. Пособие / Д.К. Новиков, В.И. Новикова, В.В. Янченко. - Витебск: ВГМУ, 2006. – с.16-17
2. <https://ipopi.org/wp-content/uploads/2017/07/RUSSO-libretto-SCID.pdf>
3. <https://www.msmanuals.com/ru>
4. <https://indicator.ru/medicine/tragediya-malchika-v-puzyre.htm>
5. <https://www.mediasphera.ru/issues/onkologiya-zhurnal-im-p-a-gertsena/2016/2/112305-218X20150212>
6. <http://www.medscape.com/viewarticle/748672>
7. <http://www.vechnayamolodost.ru/articles/gennaya-inzheneriya/gentjakoim52/>
8. <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-pervichnyi-immunodefitsit-tjazhelaja-kombinirovannaja-immunnaja-nedostatochnost-utv/#100376>